



UNIVERSIDAD AUTONOMA
DEL ESTADO DE MORELOS



**CUANTIFICACION DE MANGIFERINA EN EXTRACTO HIDROALCOHOLICO
DE *MANGIFERA INDICA* (HOJAS) Y ELABORACION DE REMEDIO
FITOQUIMICO**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN INVESTIGACION Y
DESARROLLO DE PLANTAS MEDICINALES

PRESENTA:

MED. ZAINE CUELLAR KARAM

DIRECTOR DE TESIS: DRA. GRISELDA GARCIA ALONSO

COTUTOR: DRA. MARIA LUISA VILLAREAL ORTEGA

Cuernavaca, Morelos, México

SITIOS DEL ESTUDIO

Centro de Investigación en Biotecnología de la UAEM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTORAL

Director de Tesis:

Dra. Griselda García Alonso

Profesor investigador de tiempo completo. (Universidad del Valle de México)

Cotutor de Tesis:

Dra. María Luisa Villareal Ortega (CEIB-UAEM LAB. BIOTECNOLOGIA DE PLANTAS MEDICINALES)

Asesores de Tesis:

Dr. Antonio Monroy Noyola (UAEM FACULTAD DE FARMACIA)

Dr. Fernando Mariscal Durand (UAEM FACULTAD DE AGRONOMIA)

Mtra. Sofía del Carmen Pérez Vilchis (Abassyt SRL y CV)

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer al Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB) de la Universidad Autónoma del estado de Morelos (UAEM) por la oportunidad que me brindaron para realizar el trabajo, agradezco al CONACyT por la beca otorgada. Mi más sincero agradecimiento a mi tutora la Dra. Griselda García Alonso por sus enseñanzas y dedicación para guiarme en el proyecto, a la Dra. María Luisa Villa Real Ortega por su valioso tiempo y aprendizaje que me brindó, al Dr. Alexandre Toshirrico Cardoso Taketa por sus enseñanzas y su disposición siempre de apoyar en el proyecto, al laboratorio de Plantas Medicinales del CEIB y a mis compañeros M.B. Eleazar León Álvarez, Q.B.P Martín Vázquez Velázquez y M.B. Mónica Morales Aguilar porque a pesar de tener sus proyectos personales se dieron el tiempo de apoyarme y explicarme cuando lo necesité, a la M.I. Ariadna Zenil Rodríguez por su apoyo, paciencia y disposición para apoyarme en la realización del HPLC, al Dr. Fernando Mariscal Durand por siempre apoyarnos en el proyecto para mejorarlo y al Dr. Antonio Monroy Noyola por su guía y su gran experiencia.

A mi papa Ing. Luis Miguel Cuellar Galindo quien ha sido un gran apoyo siempre y a su esposa Rosibel Reta Zapata que me ha brindado cariño y apoyo como una segunda madre y que además nos brindaron la materia prima para que este proyecto fuera posible, a mis hermanos Guillermo, Ing. Luis Miguel, MVZ. Samia y sus familias quienes me abren las puertas de su casa siempre que lo necesito y me impulsan a llegar a la siguiente meta.

A mi esposo que es un pilar en mi vida, un compañero que sin cuestionar me apoya en cada nueva aventura y siempre está ahí para guiarme. Por ultimo y no menos importante a mi madre que, aunque ya no se encuentra con nosotros me enseñó a ser la mujer que soy y me introdujo a las plantas medicinales, sin ella no sería nada de lo que ahora soy.

INDICE

1. Introducción	9
2. Productos naturales y su uso en medicina	10
3. La especie vegetal <i>Mangifera indica</i>	11
3.1. Etnobotánica	11
3.2. Uso en medicina tradicional	12
3.3. Aislamiento y caracterización de compuestos químicos	13
3.4. Estudios cuantificación en hojas de <i>Mangifera indica</i> .	17
3.5. Estudios in vitro	18
3.6. Estudios en modelos animales	20
3.7. Estudios de genotoxicidad	22
3.8. Estudios clínicos	23
3.9. Mangiferina	24
4. Planteamiento del problema	28
4.1. Pregunta general y específica	29
4.2. Justificación	29
5. Objetivos	30
6. Hipótesis	31
7. Material y métodos	31
7.1. Cromatografía de capa fina	32
7.2. Extracto de elaboración industrial (BIO MANGO)	33
7.2.1. Relevamiento fitoquímico	34
7.2.2. HPLC	37
7.2.2.1. Identificación de Mangiferina	38
7.2.2.2. Cuantificación de Mangiferina por HPLC	39
8. Elaboración de cápsulas	46
8.1. Algoritmos	46
9. Análisis de resultados	50
10. Discusión	51

11. Desarrollo de la marca	51
11.1. Imagen y etiqueta	54
12. Conclusión	55
13. Referencias bibliográficas	56

1. Introducción

Las plantas medicinales son utilizadas como fitoterapia desde tiempo atrás, en la actualidad en países desarrollados más del 80% de las personas utilizan las plantas medicinales, son fuente importante para nuevos y futuros fármacos, se sabe que el 25% de los fármacos prescritos provienen de plantas medicinales, México es el séptimo país en el mundo que utiliza plantas medicinales como tratamiento complementario (Chen et al. 2016).

En la actualidad se conoce que las plantas medicinales contienen sustancias químicas, mismas que son objeto de investigación, estos son llamados metabolitos siendo los compuestos químicos que se han utilizado en la industria farmacéutica desde tiempo atrás (Li et. Al. 2020).

La biosíntesis de los metabolitos secundarios deriva de distintas vías metabólicas dentro de las plantas, el producto final depende de la especie, parte de la planta, periodos de crecimiento y las condiciones medio ambientales entre otros (Li et. Al. 2020)

La *Mangifera indica* se ha utilizado en medicina tradicional en México para diversas afecciones como bronquitis, tos o asma (Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana 2009), a esta planta se le han realizado diversos estudios atribuyéndole su actividad terapéutica a la Mangiferina compuesto químico más importante de esta planta.

La Mangiferina se ha identificado en corteza, hojas, piel y fruto en distintas concentraciones, se han realizado estudios demostrando diversas actividades terapéuticas tanto del extracto como del compuesto puro, dentro de las actividades reportadas en estudios *in vitro* se han observado efecto antidiabético,

efecto antiinflamatorio, anticancerígeno, entre otros (Somkuwar et. Al. 2013, Sudha et al. 2012).

Por otro lado, a esta planta se le han estudiado e identificado la presencia de componentes como flavonoides, fenoles, taninos, entre otros; dichos compuestos han sido ampliamente estudiados por sus actividades útiles en padecimientos como cáncer, diabetes, enfermedades degenerativas y cardiovasculares (Lerma-Torres et. Al. 2019).

2. Productos naturales y su uso en medicina

Los productos naturales son aquellos compuestos químicos producidos por la naturaleza a través de un proceso metabólico propio del organismo, mismos que han sido aislados por el hombre para su uso farmacológico; se entiende entonces que los productos naturales son metabolitos secundarios (Ravelo et. Al. 2009).

Tan sólo en Europa hay más de 1300 plantas medicinales, mientras que en Estados Unidos de América, de las 150 prescripciones farmacológicas 118 son medicamentos de origen natural (Chen et. Al. 2016), de acuerdo con la Food and Drug Administration (FDA) el 57.7% de los fármacos aprobados entre 1981 y 2008 tienen origen natural (Ravelo et. Al. 2009)

Es importante señalar que el efecto terapéutico de las plantas medicinales se debe a los compuestos químicos que contienen por lo que es de suma importancia el estudio y análisis fitoquímico de las plantas para determinar la sustancia, la calidad y cantidad de componentes en la misma (Chanda et. Al. 2014); la edad de la planta y su estado de crecimiento, así como las condiciones medioambientales pueden modificar las concentraciones de

los metabolitos secundarios. (Li et. Al. 2020) debido a la creciente demanda mundial de productos naturales, se vuelve importante el conocimiento de los compuestos fitoquímicos que contienen (Chen et. A. 2016).

Los principales grupos de metabolitos secundarios son los ácidos grasos, antraquinonas, terpenos, esteroides, alcaloides, cumarinas, lignanos, y flavonoides (Ravelo et. Al 2009).

3. La especie vegetal *Mangifera indica*

3.1. Etnobotánica

Nombre: *Mangifera indica* L.

Nombre común: Mango criollo, palo de mango, rosamorada; Oaxaca: *tzon te manko* (amuzgo), mang, mang aay; Puebla: *tzapot* (nahua).

Familia: *Anacardiaceae*

Es un árbol que puede llegar a crecer hasta los 20 m de altura, tiene un tronco grueso, hay 82 géneros con 700 especies (Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana 2009), son una familia de árboles del orden de las *Sapindales*, es un árbol frutal de hojas perenes de entre 10 a 20 cm de largo, de color verde oscuro, sus flores son verde blanquecinas o amarillentas agrupadas en racimos grandes, sus frutos cuelgan en racimos, son grandes y carnosos de piel lisa con sabor dulce, la cáscara es delgada dependiendo de su especie pueden ser de color verde, rojo o amarillo, sus semillas son grandes envueltas en una cáscara gruesa.

Son nativos del sur y sudeste de Asia, principalmente de la India, habita en climas tropicales, llegaron a México gracias a la domesticación hasta el siglo XV debido a los viajes europeos, los principales países productores en la actualidad de Mango son India, China, Tailandia, Indonesia, Pakistán, México, Brasil, Bangladesh, Nigeria y Filipinas (Kumar et. Al. 2021, Ediriweera et. Al. 2017, Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana 2009).

En México se cosecha en 23 estados, dentro de los mayores productores se encuentra Sinaloa, Guerrero, Nayarit y Chiapas, en la actualidad México es el 6to productor de mango del mundo exportando 450 mil 524 toneladas (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural 2021).

3.2. Uso en medicina tradicional

El árbol de *Mangifera indica* se ha utilizado en la medicina tradicional en muchos países, sobre todo en los países de donde son nativos, se ha utilizado para curar la diabetes, bronquitis, diarrea, asma, entre otros (Kumar et. Al. 2021).

Las hojas se han utilizado específicamente en Bangladesh como decocción o polvo para la diabetes, en la India se utilizan para diarrea, diabetes, úlceras, enfermedad renal, enfermedad de la vesícula biliar, quemaduras y escaldaduras, en Nigeria se utilizan para diabetes y malaria, en Pakistán las hojas y semillas se utilizan para otalgia y vómito, en Perú las hojas se utilizan para la tos, bronquitis e inflamación, en Sri Lanka se usan para enfermedad pulmonar, tos y asma (Kumar et. Al. 2021).

Medicinalmente también se utiliza la corteza en distintos países para condiciones similares como diarrea, diabetes, heridas, vómitos (Kumar et. Al. 2021, Somkuwar et. Al. 2013).

En México se utilizan las hojas en cocimiento para la bronquitis y aliviar la tos en estado de México, Guerrero, Jalisco, Morelos, Quintana Roo, Sonora. Para el Asma en Sonora se utiliza además de las hojas la corteza, semillas y resina, el cocimiento de semillas se usa como antiparasitario en Distrito Federal, Estado de México, Morelos, Puebla, Sonora y Veracruz; en el estado de México se usa la corteza para la diarrea y en Sonora se usa la semilla, ambas en cocción (Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana 2009).

3.3. Aislamiento y caracterización de compuestos.

El análisis de los compuestos es útil para determinar el valor funcional (Ybañez-Julca et. Al. 2019), la *Mangifera inidica* ha sido ampliamente estudiada, se han encontrado una amplia variedad de compuestos como polifenoles del tipo flavonoides, xantonas y ácidos fenólicos (Ediriweera, et. Al. 2017).

En este árbol se ha observado una amplia variedad de compuestos, de los más abundantes son los polifenoles, xantonas y ácido fenólico (Ediriweera et. Al. 2017), sin embargo, el polifenol más abundante es la Mangiferina la cual se ha reportado que se encuentra presente entre el 2 al 15%, esta variabilidad se ha visto que es dependiente de la región geográfica (Samanta et. Al. 2019).

Se ha observado que el compuesto puro es menos eficaz debido a que la planta cuenta con más compuestos químicos como polifenoles que permite que haya sinergismo entre estos compuestos y por lo tanto mejoría en la efectividad (Ediriweera et. Al. 2017).

COMPUESTOS QUIMICOS REPORTADOS EN HOJAS

Las hojas de mango son una fuente importante de Minerales como nitrógeno, potasio, fósforo, hierro, sodio, calcio, Magnesio, Vitaminas A, B, C y E, además de proteínas (Kumar et al. 2021) se han encontrado aminoácidos como alanina, glicina, valina, tirosina, leucina y ácido aminobutirico (Ediriweera et. Al. 2017), el extracto de hojas de *Mangifera indica* puede contener una concentración de Mangiferina de hasta un 60%, en un análisis realizado por Yusukol et al.

En las hojas, se reportó la presencia desde 1.94 a 13.79 mg/g mientras que en la India se realizó un análisis de 30 variedades de *Mangifera indica* obteniendo que en promedio estos árboles contenían 17.5mg/g de Mangiferina, aunque la variedad Ladvo presentó 47.02mg/g de Mangiferina (Samanta et al. 2019)

La extracción con acetona ha permitido la identificación cromatográfica de catequinas, epicatequinas y epigalocatequinas, además de flavonoides (Tawaha et. Al. 2010), de manera adicional también se han identificado polifenoles, flavonoides, xantonas, lupeol, taraxeol (Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana 2009)

Por otro lado, se observaron distintos compuestos en las hojas de mango como ácido fenólico, terpenos, flavonoides y benzofenonas, específicamente la Mangiferina la cual es representativa de este género con un 2% de presencia en el extracto de hojas secas, (Zhang et. Al. 2019), también se han reportado aminoácidos como alanina, glicina, valina, tirosina, leucina y ácido γ -aminobutirico, polifenoles como ácido protocatequico, ácido gálico, hiperina, ácido kaínico, digilato de etilo, ácido elágico y ácido shikímico, terpenos como el α - pineno, β -pineno, δ -elemeno, taraxerol, β -elemeno, α -cube- bene, canfeno, γ -cadineno, lupeol, friedelina, linalol, β - bulneseno, α -guaiene, humuleno, α -farneseno, mirceno, car-3-eno, limoneno, β -ocimeno, γ -terpineno y α -

terpinoleno, fenilpropanos (estragol, metileugenol y elemicina) y esteroides α , β y γ -sitosterol (Ediriweera et. Al. 2017, Ybañez-Julca et. Al. 2020).

En el estudio de Somkuwar et. al y el estudio de Sudha et. Al se realizó un cribado fitoquímico cualitativo en el extracto de hoja presentando los siguientes resultados (Somkuwar et. Al. 2013, Sudha et. Al. 2012).

	AUTORES		
	SOMKUWAR ETANOLICO	SUDHA ACUOSO	SUDHA ETANOLICO
Alcaloides	+	-	-
Carbohidratos	+	NR	NR
Glicósidos	-	+	+
Saponinas	-	+	-
Fitoesteroides	+	+	+
Aceites y grasas (Mancha)	+	NR	NR
Resinas	+	+	+
Fenoles	+	+	+
Taninos	+	+	+
Flavonoides	+	+	+
Proteínas y aminoácidos	+	NR	NR

* La marca (+) representa presencia, la marca (-) representa ausencia, NR se refiere a No realizado

En esta tabla se muestran los relevamientos que realizaron Somkuwar et. Al y Sudha et. Al, en donde se puede observar similitud en la presencia de algunos componentes como los Fitoesteroides, Resinas, Fenoles, Taninos y Flavonoides,

mientras que los Alcaloides sólo fueron reportados en el estudio de Somkuwar et. Al.

FITOQUIMICOS REPORTADOS EN PIEL Y FRUTO

Además de las vitaminas y minerales identificados en la fruta, se han encontrado triterpenos, triterpenoides polifenoles y ácidos fenólicos incluyendo ácido ascórbico, quercetina, Mangiferina, carotenoides como β -caroteno, ácidos grasos de cadena larga como ácido oleico, ácido linoléico, ácido linolénico y n-pentacosanol (Ediriweera et. Al. 2017).

En un estudio realizado en Guerrero, México, al extracto de pulpa de mango de distintas variedades Ataulfo, Irwing, Manila y Criollo mostro la presencia de ácido ascórbico, α -tocoferol, carotenoides, flavonoides, polifenoles, encontrando una mayor concentración de flavonoides en la variedad manila, además se realizó un análisis de inhibición de DPPH encontrando 34.2% de actividad inhibitoria en el extracto acuoso de la variedad Manila (Maldonado-Astudillo et. Al. 2016).

FITOQUIMICOS REPORTADOS EN RAICES, CORTEZA Y SEMILLAS

En las raíces se han encontrado triterpenos y triterpenoides, en la corteza se encuentran polifenoles y ácido fenólico incluidos catequina, Mangiferina, ácido benzoico, ácido kaínico, ácido gálico, ácido shikímico y kaempferol, además de triterpenos y triterpenoides, hidrocarburos, saponinas y aminoácidos, las semillas contienen hidrocarburos y ácidos grasos, esteroides, triterpenos y triterpenoides, además de polifenoles y ácidos fenólicos como ácido ascórbico, Mangiferina, quercetina y ácido gálico (Ediriweera et. Al. 2017), también se han reportado triterpenoides, alfa y beta-amirina, cicloartenol, ácidos mangiferólico y

mangiferónico y el beta-sitosterol, en las semillas los alcaloides cis y trans-zeatín, amirenona, alfa-amirina y los esteroides campesterol, colesterol y beta-sitosterol (Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana 2009)

3.4. Estudios de cuantificación de Mangiferina en hojas de *Mangifera indica*

Se observó la presencia de Mangiferina en té de hojas jóvenes y maduras de *Mangifera indica*, el Té se realizó a través de decocción de hojas por 5 minutos a 100°C, el segundo Té se elaboró mediante infusión, dejando en reposo el material vegetal por 5 minutos en agua hervida y por último se realizó otro Té a través de sonicación a 26°C por 15 minutos. La cuantificación de Mangiferina se realizó a través de HPLC (Cromatografía líquida de alta eficiencia) con detector a 254nm, columna a 40°C a un flujo de 1ml/min fase móvil compuesta por 2% de ácido acético en agua y acetonitrilo 10%, obteniendo como resultado una mayor concentración de Mangiferina en los extractos de hojas jóvenes por medio de decocción con una concentración de 0.717mg/ml mientras que en la infusión de hojas jóvenes se obtuvo 0.285mg/ml y por ultrasonido 0.177mg/ml (Medina et. Al. 2016)

En un estudio realizado en Nayarit, México, se realizó la cuantificación de Mangiferina y lupeol en extractos de hojas y corteza de *Mangifera indica* variedad Ataulfo y autoctono, los extractos se realizaron con el solvente alcohol:agua a una concentración 8:2 y con una proporción radio de 1:10 materia:solvente, se procedió a dividir las muestras en distintos procesos maceración fría, extracción caliente, sonicación, microondas; La cuantificación se realizó a través de HPLC columna C-18, a 25°C detector a 254nm, con un flujo de 1ml/min, fase móvil agua más 3% de ácido acético y acetonitrilo con una relación 90:10, se observó que la mayor concentración se obtuvo a través del método de sonicación, obteniendo

una concentración de 112.83mg/g en corteza y un aproximado de 75mg/g en hojas de variedad Ataulfo (Lerma-Torres et. Al. 2019).

Barreto et al. realizaron un extracto seco de hexano para la eliminación de lípidos, el cual fue diluido posteriormente con metanol en 3 ocasiones, este fue analizado a través de HPLC y HPLC-ionización por electropulverización-espectrometría de masas (ESI-MS). En el ensayo basado en HPLC de hipoxantina/xantina oxidasa, los polifenoles se cuantificaron principalmente a través de HPLC analítico con columna C18 inversa con un detector de diodo UV ajustado de 278 a 340nm obteniendo 36.9 g/kg de Mangiferina en hojas maduras y 58.12g/kg de Mangiferina en hojas jóvenes (Barreto et. Al 2008)

3.5. Estudios *in vitro*

Actividad espasmolítica: Se realizó un estudio en donde se provocó efecto de contracción muscular en los anillos de íleo de ratón mediante la administración de Acetilcolina (ACh, agonista muscarínico) para evaluar la actividad espasmolítica del extracto de hojas de *Mangifera indica*, inicialmente se realizó una precontracción administrando ACh o BaCl₂ (bloqueador no selectivo de los canales rectificadores de potasio), en un segundo momento se administró el extracto de hojas a dosis de 10 y 1000 µg/mL respectivamente y se evaluó el efecto relajante del extracto, además se realizó un segundo estudio con condiciones similares con una diferencia en el pretratamiento de los anillos de íleo donde se pretrató el íleo con un baño de extracto de hojas a una dosis de 100 µg/mL observando una disminución del tono muscular del íleo de ratón en comparación con el tono basal en todos los grupos donde se utilizó el extracto (Ybañez-Julca et. Al. 2020).

Hojas de *Mangifera indica* inductora de adiponectina y regulación de adipogénesis: Se han observado en diversos estudios la actividad antiinflamatoria de la *Mangifera indica*; se evaluó la expresión génica de catalasa (CAT) superóxido desmutasa dependiente de manganeso (MnSOD), hemo oxigenasa-1 (HO-1), interleucina 6 (IL-6) e interleucina-10 (IL-10) en el extracto etanólico de hojas con una concentración de 46.30 mg/g de polifenoles, Y con una concentración específica de Mangiferina de 70.200 ng/ml, γ -orizanolo y mioinositol en concentraciones de 47,700 ng/ml y 21,600 ng/ml respectivamente, los resultados mostraron que las células diferenciadas presentaban una expresión génica de CAT, MnSOD e IL-6 sobrepresada, mientras que las células tratadas con el extracto mostraron disminución de la expresión de estos genes, la catalasa y la superóxido desmutasa, las cuales son enzimas que apoyan a la descomposición del peróxido de hidrógeno, lo que les confiere propiedad antioxidante, mientras que la IL-6 es una citocina que disminuye el TNF- α lo que le da propiedad antiinflamatoria por otro lado propicia la formación de osteoclastos (Sferrazzo et. Al. 2019).

Actividad antiinflamatoria ensayo de inhibición de lipooxigenasa: Se evaluó la actividad antiinflamatoria a través del ensayo de inhibición de lipooxigenasa, en este COMA se utilizó un extracto metanólico de hojas de *Mangifera indica* donde se observó la actividad inhibitoria de la lipooxigenasa con una concentración media inhibitoria (IC₅₀) de 57.75 μ g/ml, siendo comparable a la indometacina, este es un AINE ampliamente conocido por su efecto antiinflamatorio (Mohan et. Al. 2013)

Por otro lado, se estudió la inhibición de lipooxigenasa evaluando distintas diluciones desde 50, 100, 150 y 200 μ g obteniendo un IC₅₀ de 96.71 μ g /ml (Mohan et al. 2013).

Actividad antioxidante: Se observó la actividad antioxidante de un extracto etanólico de hojas de *Mangifera indica* con una concentración de 70,200 ng/ml de Mangiferina, la actividad se reportó a través de la prueba de DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) presentando un 80% de inhibición de DPPH a concentraciones de 750 µg, 380 µg, 150 µg, 75 µg y 35 µg del extracto (Mohan et. Al 2013).

En otro estudio donde se realizó la prueba de DPPPH se utilizó extracto metanólico de hojas de *Mangifera indica* utilizando diluciones de 1, 10, 25, 50 µl diluidos en 1ml de metanol, obtuvieron un porcentaje de inhibición de 4.79%, 13.37%, 34.56% y 95.06% respectivamente (Mohan et. Al 2013).

A la concentración de 100µl de té de hojas de *Mangifera indica* diluida con 900µl de agua y mezclada con 1.5ml de DPPH 0.1M, se obtuvo un porcentaje de inhibición de 80.331 (Medina et. Al. 2016).

3.6. Estudios en modelos animales

Potencial antiinflamatorio hepático: Para evaluar la actividad antiinflamatoria se usó un extracto etanólico de hojas de *Mangifera indica* con una concentración de 21g de Mangiferina la cual corresponde a 5.8% del extracto, la muestra fue de veinticuatro Ratas Wistar, las cuales se dividieron en tres grupos; al grupo uno (G1) se le administro una dieta alta en lípidos, al grupo dos (G2) se le administró la misma dieta y se le trató con el extracto etanolico a dosis de 250mg/kg, al tercer grupo (G3) se le administró dieta alta en lípidos y tratamiento con Mangiferina a dosis de 40mg/kg, por un periodo de 8 días, se evaluó el peso corporal total, el peso del hígado, índice hepatosomatico, superoxidodismutasa (SOD), determinación de malondialdehído (MDA), los efectos fueron favorables mostrando actividad antiinflamatoria evidenciada por un incremento de IL-10 y reducción de NFkB en los grupos tratados con EL extracto de hoja y Mangiferina (Toledo et al. 2019).

Atenuante de toxicidad reproductiva: Se realizó un estudio con treinta cerdos de Guinea machos con un peso promedio de 410.89g, a estos se les dio una dieta a base de pasto y plaguicida de acetamipirida (ACP) al 20%, compuesto con efecto toxico, además de extracto etanolico de hojas de *Mangifera indica*.

La muestra se dividió en 5 grupos de 6 cerdos CADA UNO, administrándose el tratamiento de la siguiente forma:

- Grupo 1: Se le administró agua destilada
- Grupo 2: Se le administró 80mg/kg de acetamipirida (ACP)
- Grupo 3: Se le administró 80mg/kg de acetamipirida y 50mg/kg de extracto
- Grupo 4: Se le administró 80mg/kg de acetamipirida y 100mg/kg de extracto
- Grupo 5: Se le administró 80mg/kg de acetamipirida y 200mg/kg de extracto

Noventa días después del tratamiento se sacrificaron y pesaron sus órganos, se les realizó extracción de sangre para la cuantificación de testosterona, además se evaluó la motilidad e integridad de la membrana celular y morfología de los espermatozoides, los resultados demostraron que el peso de los órganos sexuales tuvo poca diferencia con respecto al grupo 2, por otro lado la motilidad de los espermatozoides si tuvo diferencia respecto al grupo 2, estos resultados casi se podían equiparar con el porcentaje de movilidad del grupo control negativo (grupo 1), con respecto a la integridad de la membrana celular de los espermatozoides se observó resultados positivos casi similares al grupo 1. Demostrando que el extracto tuvo un efecto atenuante de la toxicidad en la motilidad de espermatozoides (Arthénice et al. 2019).

Actividad antidiabetica: Se estudio el efecto del extracto acuoso de hojas de *Mangifera indica* sobre el nivel de glucemia en ayuno en ratas con diabetes inducida con alloxan. Los resultados mostraron que el extracto a dosis de 400mg/kg provocó una disminución significativa en la glucosa en ayuno en

comparación con el grupo control con diabetes, además de presentar disminución de Triglicéridos y en enzimas hepáticas como AST, ALT, ALP (Sudha et al. 2012)

3.7. Estudios de genotoxicidad

Se realizó un estudio con extracto acuoso de *Mangifera indica*, donde se utilizó sesenta ratas Wistar, dividiéndolas en seis grupos:

- Grupo 1: Grupo control negativo tratado por 28 días con solución salina
- Grupo 2: Grupo tratado con extracto acuoso de *Mangifera indica* (EAMI) a dosis de 125mg/kg por 28 días
- Grupo 3: Ratas tratadas con EAMI a dosis de 250mg/kg por 28 días
- Grupo 4: Grupo tratado con EAMI a dosis de 500mg/kg por 28 días
- Grupo 5: Grupo tratado con EAMI a dosis de 1000mg/kg por 28 días
- Grupo 6: Grupo control positivo tratado con 50mg/kg de ciclofosfamida 24 hrs antes de eutanasia

En el primer análisis se tomaron 100 células sanguíneas periféricas de cada animal encontrando que el grupo 2, 3, 4 y 5 reportaron similitud al grupo negativo sugiriendo que a esas dosis el extracto no presenta genotoxicidad. Otro análisis realizado fue el de micronúcleos donde se obtuvieron las muestras de la médula ósea, el grupo control positivo presentó aumento de eritrocitos policromáticos micronucleados (MN-PCE) en comparación con el grupo control negativo, los grupos tratados con EAMI no presentaron diferencia con el grupo control negativo lo que mostró seguridad respecto a la toxicidad genética, también se evaluó la citotoxicidad revelando un aumento de la relación de eritrocitos policromáticos y normocromáticos evidenciando que el extracto presenta un efecto citoprotector dosis dependiente (Villas-Boas et al. 2019).

En el mismo estudio se realizó la prueba SMART (un método para detectar actividad mutagénica y recombinogénica en células somáticas de *Drosophila*) utilizando cruce experimental de mosca de la fruta, con 3 marcadores genéticos distintos, las larvas de tercer estadio se lavaron y trataron con el extracto acuoso de *Mangifera indica*, en este estudio se observó una supervivencia del 80% en los grupos tratados con EAMI, también se observó que el control negativo presentó una frecuencia de 0.15 de mancha simple pequeña por mosca (MSP/mosca), mientras que el control positivo tuvo una frecuencia de 12.23 MSP/mosca, el grupo tratado con EAMI tuvo una frecuencia de 0.15-0.45 MSP/mosca estadísticamente muy similar al grupo control negativo, esta similitud se observó en la descendencia también reconociendo de este modo que el extracto no presentó actividad mutagénica.(Villas-Boas et al. 2019).

3.8. Estudios clínicos

Función cognitiva: Se realizó un estudio doble ciego, aleatorizado, con extracto de hojas de *Mangifera indica* a una concentración de 60-65% de Mangiferina, 3-5% de homomangiferina, hasta 1% de isomangiferina, de 6-20% de polisacáridos, hasta 1% de taninos hidro solubles y no hidrosolubles, del 6-15% de fibra y minerales.

El estudio incluyó a 70 personas sanas a las que se les administró 300mg de extracto en dosis única, se evaluó la función cognitiva y estado psicológico previo a la administración y otras 3 evaluaciones de 30 min, 3hrs y 5 hrs posterior a la administración del extracto, la evaluación se realizó a través de la escala computacional COMPASS y una batería de demanda cognitiva; para la parte del estado de ánimo realizaron el Perfil de estados de ánimo (POMS-2) forma corta para adultos y la Escala visual analógica del estado de ánimo (VAMS), se demostró que el extracto de hojas de *Mangifera indica* mejoró la precisión del

rendimiento de las pruebas la cual se mantuvo posterior a la ingesta del extracto en todas las pruebas cognitivas (Wightman et al. 2020).

Artritis reumatoide: Estudio realizado con extracto acuoso de corteza de tallo de *Mangifera indica*, en el que se realizó el aislamiento de siete compuestos; ácido gálico, ácido 3,4-dihidroxibenzoico, éster metílico del ácido gálico, éster propílico del ácido gálico, catequina, epicatequina y la Mangiferina.

Usando un concentración de 15% de Mangiferina siendo este su componente de mayor concentración; se incluyeron 24 pacientes con Artritis Reumatoide Activa, 12 para el grupo control, y 12 para el grupo de estudio, el grupo control recibió tratamiento con Metrotexate a una dosis de 12.5 mg/semana y AINE como Naproxeno, Ibuprofeno, Diclofenaco según requerimiento, y Prednisona 5-10mg/día, en el grupo experimental se administró Metrotexate 12.5mg/semana, extracto de *Mangifera indica* 900mg/día y AINE y prednisona a demanda, el estudio se realizó por 180 días donde se obtuvo como resultado una disminución de 1.2 puntos respecto a puntaje inicial dentro de la escala utilizada en pacientes tratados con extracto de *Mangifera indica*, cabe destacar que el grupo en tratamiento con extracto mostró a los 180 días una disminución de los efectos adversos gastrointestinales (López et al. 2013).

3.9. Mangiferina

El mayor componente biológico de la *Mangifera indica* con actividad terapéutica es la Mangiferina a la cual se le conocen varias actividades farmacológicas, las concentraciones de estos compuestos pueden variar dependiendo de la variedad (Keshawa et al- 2017). La Mangiferina (1,3,6,7 - tetrahidroxixantona - C2-β-D-glucósido) es un polifenol natural, una xantona que se ha estudiado ampliamente (Fotie et al. 2006).

Las xantonas son moléculas a las cuales se les atribuyen distintas actividades terapéuticas, se clasifican en cinco tipos:

- Xantonas oxigenadas simples con sus subgrupos mono, di, tri, tetra, penta y hexaoxigenados
- Glucosidos de Xantonas
- Xantonas preniladas y relacionadas
- Xanthonolignoides
- Xantonas diversas

Se considera que estas moléculas tienen actividad antibiótica, antifúngica y antimicrobial para las plantas, la actividad antiinflamatoria de las xantonas se ha estudiado demostrando su efecto sobre las moléculas de adhesión, la inhibición de la expresión de moléculas involucradas en la inflamación, específicamente con la Mangiferina se observó reducción de la pérdida plasmática por reacción anafiláctica cutánea en ratones, además de su efecto antiviral, antidiabético, hepatoprotector y antioxidante (Fotie et al. 2006).

AL evaluar la actividad antiinflamatoria se aisló la Mangiferina de la planta *Pueraria tuberosa* observándose reducción de COX2, iNOS, TNF α inducidas por LPS en células RAW 264.7 y mostrando mayor eficacia que el celecoxib utilizado como tratamiento estándar a dosis de 20 μ M, también se observó inhibición de la COX1 con un IC50 de 85 μ M para inhibir COX 1 y 40 μ M para COX2, además de un aumento de IL-10, en este mismo estudio se observó la reducción de especies reactivas de oxígeno a una dosis de 40 μ M lo que demostró mayor efectividad que el estándar utilizado N-acetil cisteína (Bulugonda et al. 2017)

Se realizó un estudio para probar la actividad antidiabética, se formaron 3 grupos de 8 a 10 ratas wistar con diabetes inducida, al grupo control (grupo 1) sólo se le administró agua, al grupo 2 no se les brindó tratamiento, al grupo 3 se les

administró Mangiferina a dosis de 20 mg/kg/día y al grupo 4 se le dio tratamiento utilizando rosiglitazona a dosis de 4mg/kg/día.

Se midieron los niveles de TNFa mostrando una disminución en el grupo 3 de la concentración de TNFa de 121.8pg/ml en comparación con el grupo 2 quienes presentaban una concentración de 256.2pg/ml, mientras que el grupo 4 presentó una concentración de 133.2pg/ml.

En cuanto a los niveles de adiponectina se vio un aumento de su concentración en el grupo 3 en comparación con el grupo 2 y el grupo 4. Estos resultados evidenciaron actividad antiinflamatoria en el grupo tratado con Mangiferina y actividad en los niveles de adiponectina (Saleh et al. 2014).

En otro estudio se utilizaron 79 ratas wistar a las cuales se les indujo colitis para demostrar el impacto de la Mangiferina en el tejido colónico, la muestra total se dividió en 8 grupos. Tres grupos recibieron Mangiferina a dosis de 10, 30 y 100mg/kg respectivamente, a estos grupos se les realizó la medición de Superóxido desmutasa, TNFa e IL-17 y se les realizó análisis de los cambios macro y microscópicos de intestino de acuerdo con los criterios de Gálvez et. Al 2001, los resultados mostraron que la dosis de 10mg/kg no presentó diferencias en los cambios macro y microscópicos tisulares en intestino en comparación con el grupo control, en los grupos con dosis de 30 y 100mg/kg de Mangiferina se observó disminución de los daños tisulares con dosis mayores de 100mg/kg, con respecto a la concentración de TNFa e IL-17 se observó una disminución de su concentración con ratio de 0.692 para el TNFa y 0.663 para IL-17 evidenciando su actividad antiinflamatoria (Szandruk et al. 2018).

Se realizó un estudio por 6 semanas con 60 ratas de tipo salvaje de cuatro semanas de edad, estas fueron divididas en tres grupos de 20 ratas cada uno, establecidos como el grupo control normal, grupo con periimplantitis tratada con vehículo (solución salina) y el grupo con periimplantitis tratada con Mangiferina a dosis de 50mg/kg una vez al día, se les realizó una extracción de primero,

segundo y tercer molar de maxilar izquierdo, se permitió un periodo de curación de ocho semanas y posteriormente se realizó la implantación con tornillos de titanio, se realizó la medición de IL-6, TLR2, NFkB, a través de análisis por western blot y revisión histológica del tejido circundante, los resultados obtenidos fueron una menor pérdida ósea en el grupo tratado con Mangiferina, PUNTO respecto a la medición de mediadores de inflamación se obtuvo una disminución de IL-6, TLR2 y NFkB en comparación con el grupo tratado con vehículo demostrando acción antiinflamatoria a través de la reducción de IL-6 y sus derivados de fosforilación, lo que determina un efecto antiinflamatorio, se sugiere que el efecto se debe a la supresión de la vía inflamatoria de NFkB, complejo proteico que controla la transcripción de ADN (Li et al. 2019).

Por otro lado, se estudió su efecto antiinflamatorio en ratones con artritis inducida, el estudio se realizó con 50 ratas divididas en cinco grupos de 10 cada una.

- Grupo 1.- (PROTOCOLO PROFILACTICO). Recibió dosis diarias creciente de Mangiferina (50, 100, 400mg/kg) los días 21 a 34
- Grupo 2.- (PROTOCOLO PROFILACTICO) Recibió solución salina tamponada con fosfato (pH 7.4)
- Grupo 3.- (PROTOCOLO TERAPEUTICO) Recibió 100mg/kg de Mangiferina por 14 días vía oral un día después de instalada la artritis
- Grupo 4.- (PROTOCOLO TERAPEUTICO) Recibió 400mg/kg de Mangiferina por 14 días vía oral un días después de instalada la artritis
- Grupo 5.- (PROTOCOLO TERAPEUTICO) Se le administró Solución salina tamponada con fosfato (pH 7.4)

Se determinaron los niveles de citoquinas como IL-1, IL-6, TNFa, encontrando como resultado una importante disminución de estas citoquinas inflamatorias en timo, bazo y circulantes en sangre en comparación con el grupo tratado con solución salina, revirtiendo los efectos del tratamiento empleado para inducir la artritis, se observó un mayor efecto a dosis más altas, además se estudiaron los factores de transducción de señales para evidenciar el mecanismo de actividad

de la Mangiferina evidenciando supresión de la actividad de ERK1 / 2 y NF- κ B (Masanobu et al. 2015).

4. Planteamiento del problema.

Las plantas medicinales son ampliamente utilizadas en todo el mundo, en Europa constituye más del 80% de los tratamientos empleados, sin embargo, nos encontramos ante un aumento significativo en la pérdida de estas plantas medicinales, cada año la extinción de las especies vegetales nos indica que estamos perdiendo miles de posibilidades farmacéuticas nuevas, el conocimiento de los metabolitos secundarios de las plantas y sus efectos nos ayuda a obtener más posibilidades terapéuticas para las diversas enfermedades del humano (Chen et al. 2016)

Los estudios de fitoquímica permiten la identificación de los principios activos y mayoritarios de las plantas medicinales, lo que proporciona las bases para posteriores estudios en modelos animales y ensayos clínicos para probar la actividad farmacológica de las plantas medicinales. Al conocer los principios activos presentes es posible deducir las posibles acciones farmacológicas (Torres et al. 2008)

El mango es un árbol que da un fruto conocido y consumido en la mayoría del mundo, sin embargo, en México poco se ha utilizado en su medicina tradicional, confinándose su uso a solo ciertas regiones del país (Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana 2009), siendo un recurso natural presente en nuestro país es importante difundir su uso para beneficio de la población, se ha evidenciado en diversos estudios la presencia de polifenoles (Maldonado-Astudillo et al. 2016), alcaloides, fitoesteroles, flavonoides (Somkuwa et al. 2013, Sedha et al. 2012), puesto que es un árbol ampliamente disponible en México y

la evidencia apunta que contiene fitoquímicos con actividad terapéutica demostrada es importante verificar la presencia y concentración de estos principios activos.

4.1. Pregunta general y específica

¿El extracto hidroalcohólico de hojas de *Mangifera indica* de la región de Soledad de Doblado, Veracruz tiene Mangiferina?

- ¿El extracto hidroalcohólico de hojas de *Mangifera indica* de la región de Soledad de Doblado, Veracruz contiene Mangiferina en concentraciones similares a las reportadas en estudios de especies de otras regiones?

4.2. Justificación

La *Mangifera indica* es una planta originaria de Asia que en México se extiende en el centro y sur del país, diversos estudios de sus hojas se han realizado para identificar los compuestos fitoquímicos presentes en ella. Los estudios fotoquímicos muestran la presencia de alcaloides, fitoesteroles, flavonoides, polifenoles todos estos grupos de metabolitos secundarios que han presentado diversas actividades en el cuerpo humano (Somkuwa et al. 2013, Kumar et al. 2021).

También se ha estudiado su actividad antiinflamatoria en estudios *in vitro* como en el estudio de inhibición de lipooxigenasa donde se usó extracto metanólico y se observó una actividad inhibitoria máxima de 57.7µg/ml, en estudios preclínicos se ha observado disminución de NFκB acuñándole su actividad a la Mangiferina a una concentración del 5.8% en el extracto, por otro lado, se ha reportado

actividad antidiabética, observando que el extracto acuoso de hojas de *Mangifera indica* a dosis de 400mg/kg provocan disminución significativa en la glucosa en ayuno en comparación con el grupo control de ratas con diabetes (Sudha et al. 2012)

La *Mangifera indica* ha sido ampliamente estudiada respecto a su composición fitoquímica encontrando que las hojas pueden contener un promedio de 2-3% de Mangiferina a la cual se le atribuyen sus actividades terapéuticas (Keshawa et al. 2017).

Debido a la evidencia científica de la actividad farmacológica de la Mangiferina nos dimos a la tarea de realizar la identificación y cuantificación de Mangiferina en el extracto hidroalcohólico de *Mangifera indica* de la región de Soledad de Doblado, Veracruz con la perspectiva de desarrollar a futuro estudios para el desarrollo de un remedio herbolario.

5. Objetivos

OBJETIVO GENERAL

Realizar la identificación y cuantificación de Mangiferina en el extracto hidroalcohólico de hojas de *Mangifera indica*.

OBJETIVO PARTICULAR

- Identificar la presencia de Mangiferina en el extracto hidroalcohólico de hojas de *Mangifera indica*
- Evidenciar la presencia de Alcaloides, Cumarinas, Taninos y Flavonoides, Triterpenos Esteroides y Saponinas

- Cuantificar la concentración de Mangiferina en el extracto hidroalcohólico de hojas de *Mangifera indica*

6. Hipótesis

El extracto hidroalcohólico de hojas de *Mangifera indica* contiene Mangiferina en concentraciones similares a las reportadas en los estudios realizados por Lerma-Torres et. Al en el 2019 en Nayarit, México

7. Material y métodos

Para la identificación de la presencia de Mangiferina se utilizó un extracto hidroalcohólico seco elaborado en el CEIB utilizando hojas de *Mangifera indica* (EXT CEIB).

- a) Se realizó el corte de hojas en Soledad de Doblado, Veracruz, México
- b) Las hojas se secaron en el laboratorio del CEIB a la sombra
- c) Se procedió a pulverizar las hojas secas
- d) Se utilizaron 5g de material vegetal seco pulverizado
- e) Se agregaron al matraz con 30ml de etanol, posteriormente se procedió a sonicar por 5 minutos y se filtró con papel filtro Whatman vertiéndose en un frasco,
- f) Se agregaron 10ml de etanol al producto restante y se procedió a sonicación por 5 minutos, se filtró con papel filtro Whatman y se vertió en recipiente

- g) Se agregaron 10ml de etanol al producto restante y se procedió a sonicación por 5 minutos, se filtró con papel filtro Whatman y se vertió en recipiente anterior
- h) Obteniendo 50 ml de producto final filtrado y se procedió a secado en campana
- i) Se liofilizó el extracto seco para eliminar la mayoría de la humedad restante
- j) Una vez obtenido el extracto seco en polvo se solubilizó 2mg del extracto en 2 ml de etanol para proceder a realizar nuestra cromatografía de capa fina
- k) El estándar se disolvió en la misma proporción que el extracto 2mg de estándar en 2 ml de metanol.

7.1. Cromatografía de capa fina

A este extracto se le elaboró una cromatografía de capa fina para evidenciar la presencia o ausencia de dicho compuesto.

Se realizó la cromatografía de capa fina de la siguiente forma:

- Se utilizó como fase fija: placas de sílice
- Como fase móvil se utilizaron las siguientes:
 - A. – (10:0.5:0.5:1.5) Etil acetato, Ácido acético, Ácido fórmico, Agua
 - B. –(4:2:1) Butanol, Agua, Ac. Acético

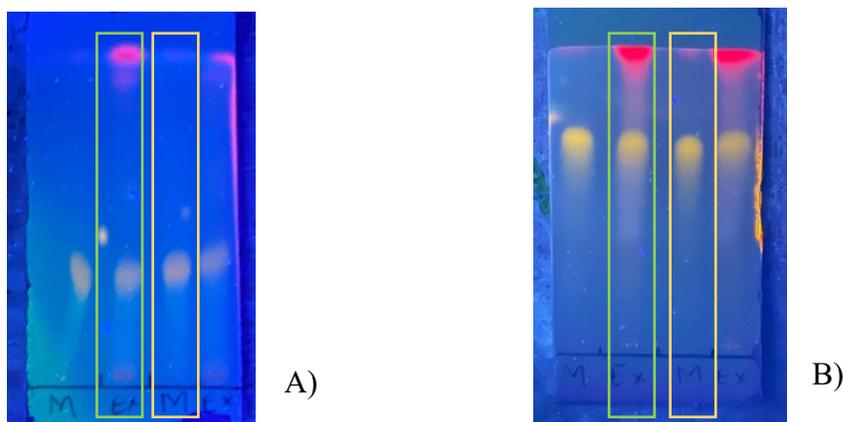


Imagen 4. Se observa en la columna de color verde el extracto seco hidroetanolico de hojas de *Mangifera indica* y en la columna color amarillo el estándar Mangiferina, la imagen A corresponde a la fase móvil A mencionada anteriormente y la imagen B a la fase móvil B.

7.2. Extracto de elaboración industrial de *Mangifera indica* (BIO MANGO)

Una vez evidenciada la presencia de Mangiferina en el extracto de hojas de *Mangifera indica* se procedió a la solicitud de elaboración de un extracto hidroalcohólico seco de hojas de *Mangifera indica* de manera industrial solicitando una concentración 1:1 de un extracto hidroalcohólico a una concentración 80:20.

- a) Se realizó el corte de hojas de *Mangifera indica* en Soledad de Doblado, Veracruz, México durante el periodo de Julio a septiembre del año 2021
- b) Las hojas se secaron en secadores diseñados para evitar el paso de la luz y permitir el flujo de aire caliente.
- c) Una vez secas se almacenaron en costales
- d) Posteriormente se trasladaron a Querétaro a la empresa que realizó el extracto de forma industrializada
- e) Se realizó de forma industrial un extracto hidroalcohólico seco.
- f) Una vez obtenido el extracto industrializado se procedió al relevamiento fitoquímico y cuantificación de Mangiferina

7.2.1. Relevamiento fitoquímico

Se utilizaron 30g el extracto hidroalcohólico seco de hojas de *Mangifera indica* elaborado de forma industrial y se diluyó en 100ml de etanol

Reconocimiento de Alcaloides

Los alcaloides son aminoácidos con un anillo heterocíclico con un nitrógeno en él, se han evidenciado la presencia de alcaloides en extractos de hojas (DIPALI), las pruebas se basan en la capacidad de unirse a metales pesados y al yodo.

Se secaron 30 ml de la dilución del extracto y se agregaron 5 ml de HCL se calentó por 19 min y se dividió en 2 tubos de ensayo, se le agregaron unas gotas de los reactivos.

- Reactivo de Mayer: Consiste en la precipitación de la unión del reactivo (mercuriyoduro de potasio) con el alcaloide formando a simple vista un precipitado blanco o amarillo claro.
- Dragendorff: En este reactivo se utiliza el yoduro de bismuto, al mezclarse con el alcaloide formará un precipitado anaranjado o rojo

Cumarinas

Las cumarinas son derivados de la a-benzopirona presentan fluorescencia azul o verde al ser irradiados con luz ultravioleta, la determinación de cumarinas se realiza evaporando el extracto con un papel filtro sobre el tubo de ensayo impregnado con Hidróxido de Sodio y exponiéndolo a la luz UV evidenciando su presencia al presentar fluorescencia amarilla.

Se colocaron 2ml del extracto en un tubo de ensayo y se tapó con papel filtro impregnado previamente con solución de NaOH, se llevó a baño de agua a 80^a C por unos minutos, el papel se examinó bajo luz UV.

Reconocimiento de Taninos y Flavonoides

El reconocimiento de estas sustancias en estas pruebas se debe a la precipitación producida de los compuestos fenólicos con el cloruro férrico, debemos de considerar que los taninos son polímeros de polifenoles mientras que los flavonoides son compuestos polifenólicos, el cloruro ataca a los hidrógenos de los grupos hidroxilo provocando la unión con el hierro.

- Prueba de cloruro férrico (FeCl_3): Es una prueba colorimétrica donde al añadir el reactivo a la muestra se observa un cambio de coloración púrpura, verde o azul en presencia de taninos o flavonoides, si la coloración presente es rojiza estamos ante la presencia de compuestos fenólicos, si la coloración se torna verde se observan taninos condensados mientras que si se torna azul existe la presencia de taninos hidrolizables.

Se evaporaron 5ml del extracto y se disolvió en 10ml de agua destilada, se filtró y en un tubo de ensayo se pusieron 3 ml de la dilución a los que se le agregaron 3 gotas de FeCl_3 para observar si hay cambio de coloración, al resto de la dilución se le agrego gelatina para observar el precipitado.

Triterpenos y esteroides

Estas pruebas se basan en la identificación de la molécula de colesterol presente en los terpenos y esteroides.

Se llevó a la sequedad 10 ml del extracto y se le adicionaron 10 ml de cloroformo esto se dividió en dos tubos de ensayo y se agregaron a cada uno los reactivos

- Lieberman Bouchard: En este caso el colesterol reacciona produciendo una pérdida de agua y protonización del colesterol evidenciándose con un cambio de color a verde azulado
- Salkowski: Durante esta reacción se produce una oxidación de los compuestos indolicos dando una coloración rosada

Saponinas

Las saponinas son compuestos glicosídicos de esteroides o triterpenoides lo que le confiere solubilidad en agua por su compuesto glucósido y solubilidad en lípidos por los esteroides o triterpenoides que contiene, tienen propiedades semejantes al jabón, en esta prueba se evaporaron 5 ml de la dilución y se agregó agua caliente, se identifica la presencia de saponinas si al agitar la mezcla vigorosamente se obtiene espuma y esta perdura por un periodo de 10 a 20 minutos, lo que evidenciaría la presencia de estos compuestos.

Resultados del relevamiento fitoquímico

Esta tabla muestra la presencia evidente de taninos, y moderada presencia de alcaloides, cumarinas y triterpenos, la cruz (+) hace referencia a la presencia de los compuestos mencionados, mientras que la cantidad ya sea una, dos o tres cruces hacen referencia de la cantidad cualitativa de los mismos quedando como ligera presencia, moderada presencia y presencia evidente respectivamente; por otro lado, el signo negativo hace referencia a la ausencia de estos.

PRUEBA	RESULTADOS
ALCALOIDES MAYER	++
ALCALOIDES DRAGENDORFF	++
CUMARINAS	++
TANINOS (CLORURO FERRICO)	+++
TRITERPENOS LIEBERMAN-BOUCHARD	++
TRITERPENOS SALKOWSKI	++
SAPONINAS	-

7.2.2. HPLC

Para este estudio se realizó un análisis del extracto elaborado de forma industrial y del extracto elaborado en el CEIB.

EXT CEIB (Muestra 1)

- Se analizó el extracto hidroalcohólico seco de hojas de *Mangifera indica* realizado en el CEIB
- Se procedió a suspender 8 mg de la muestra vegetal con 8 ml de etanol y 8ml de agua.
- Se sonicó por 15 minutos.
- Se suspendió 1.8mg de la muestra vegetal con 1.8ml de etanol y 1.8 ml de agua
- Se sonicó por 15 min

BIO MANGO (Muestra 2)

- Se analizó el extracto realizado industrialmente el cual contenía 75% de excipiente reconocido como inulina y 25% de extracto seco hidroalcohólico de hojas secas de *Mangifera indica*.
- Se procedió a suspender 8 mg de la muestra vegetal con 8 ml de etanol y 8ml de agua.
- Se sonicó por 15 minutos
- Se suspenden 1.8mg de la muestra vegetal con 1.8ml de etanol y 1.8 ml de agua
- Se sonicó por 15 min

ESTANDAR

Se elaboró una dilución de estándar de Mangiferina para el HPLC este se utiliza para obtener un parámetro además de realizar con el mismo una curva de calibración para establecer la concentración de Mangiferina en los extractos analizados.

- Se adquirió el estándar en polvo de Mangiferina de la empresa SIGMA
- Se procedió a suspender 5.3mg del estándar en 5.3ml de etanol y 5.3 ml de agua
- Se sonicó por 15 min

7.2.2.1. Identificación de Mangiferina por HPLC

Posteriormente se realizó un análisis de los extractos por HPLC y una curva de calibración con el fin de determinar la cantidad de Mangiferina presente en el extracto, esto se realizó de la siguiente manera.

Se realizó en un HPLC marca JASCO en el cual se utiliza una columna fase reversa C-18, la fase móvil utilizada fue Agua con 1% de Acido acético + Acetonitrilo a una proporción 87:13 se empleó un flujo de 1ml/min, a temperatura ambiente, se observó un pico en el estándar con un tiempo de retención promedio de 12.7 min, en el extracto BIO MANGO se obtuvo un pico con tiempo de retención promedio de 12.7 min y un segundo pico con tiempo de retención de 31 min, mientras que en el extracto EXT CEIB sólo se observó el pico correspondiente a Mangiferina estos observados en una longitud de onda de 254 (Imagen 10).

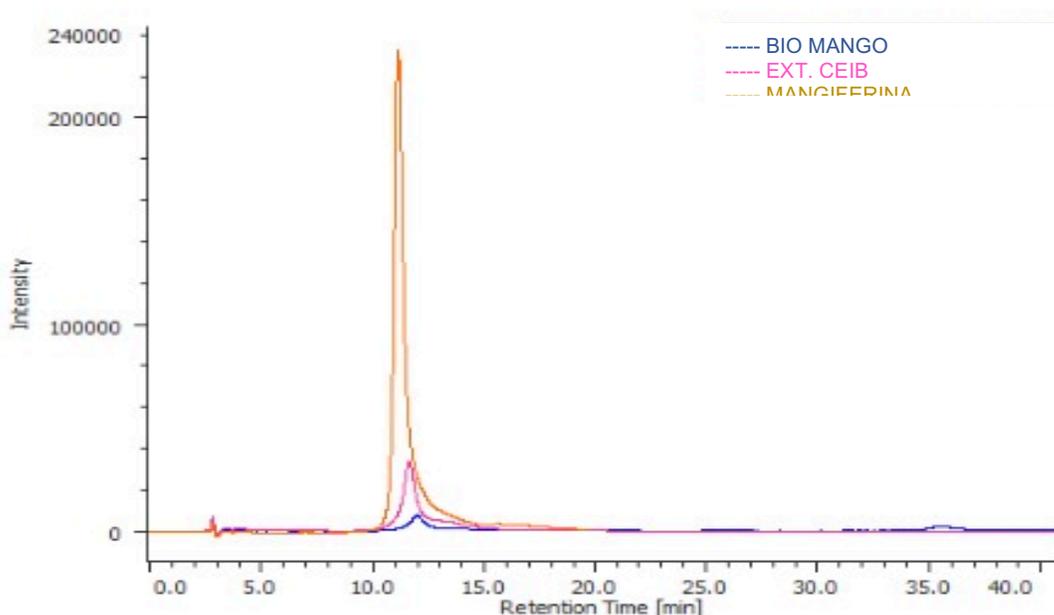


Imagen 10. Se pueden observar un primer pico con un tiempo de retención entre 10 y 12 minutos en las 3 muestras. En la línea BIOMANGO se observan un primer pico correspondiente al pico de mangiferina y un segundo pico con tiempo de retención entre 35 v 37 minutos.

7.2.2.2. Cuantificación por HPLC

CURVA DE CALIBRACION CON ESTANDAR

Para la cuantificación se realizó una curva de calibración del estándar de la siguiente forma:

- Se realizó una primera dilución del estándar base 0.5:1 tomando 500 mcl del estándar y posteriormente aforando con etanol a 1ml a este se le nombró dilución 1, se procedió a realizar el mismo procedimiento en 7 ocasiones obteniendo 7 diluciones como en la tabla siguiente, se realizó HPLC por

triplicado a las 7 diluciones, obteniendo en cada punto el siguiente porcentaje de área promedio:

DILUCION	CONCENTRACION	% DE AREA
DILUCION 1	0.25mg	8873566.667
DILUCIÓN 2	0.125mg	4331700
DILUCION 3	0.0625mg	1981266.667
DILUCION 4	0.0312mg	863423.3333
DILUCION 5	0.0156mg	416346.6667
DILUCION 6	0.0078mg	110460.6667
DILUCION 7	0.0039mg	25425.33333

Como se puede observar en la tabla anterior cada dilución corresponde a una concentración estimada y de estas se obtiene un porcentaje de área de pico, para así poder obtener nuestra gráfica de concentración lineal.

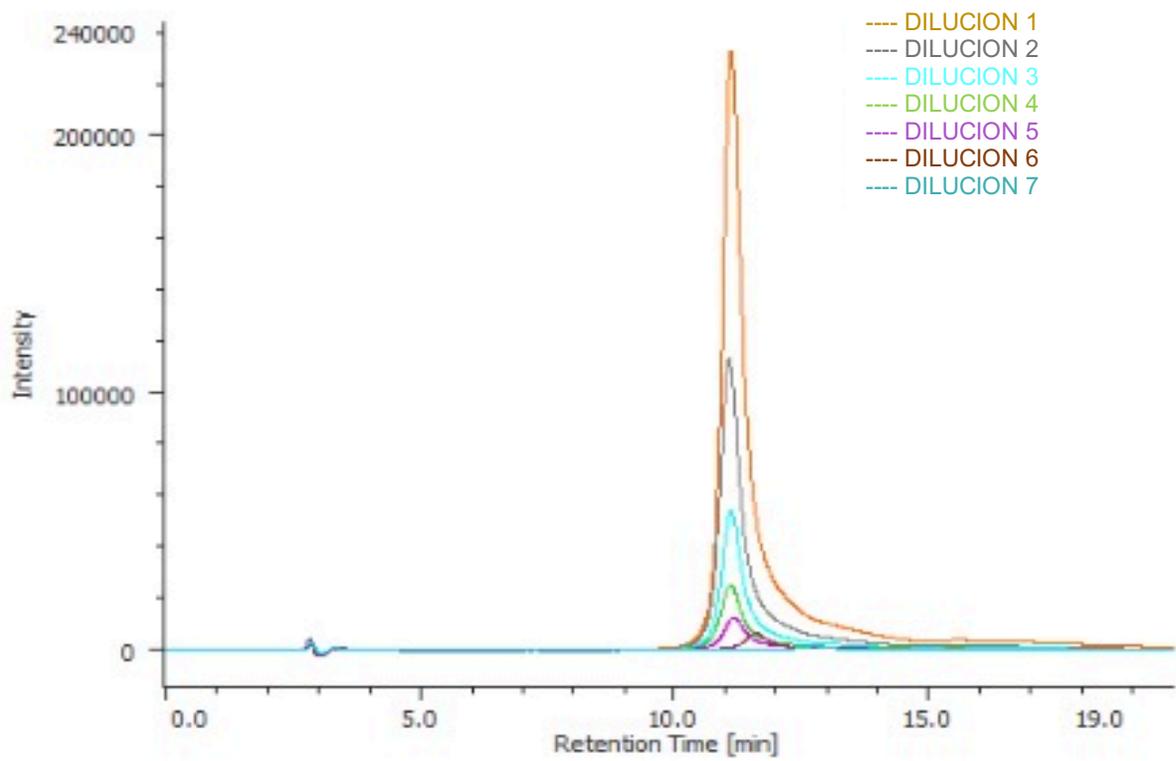
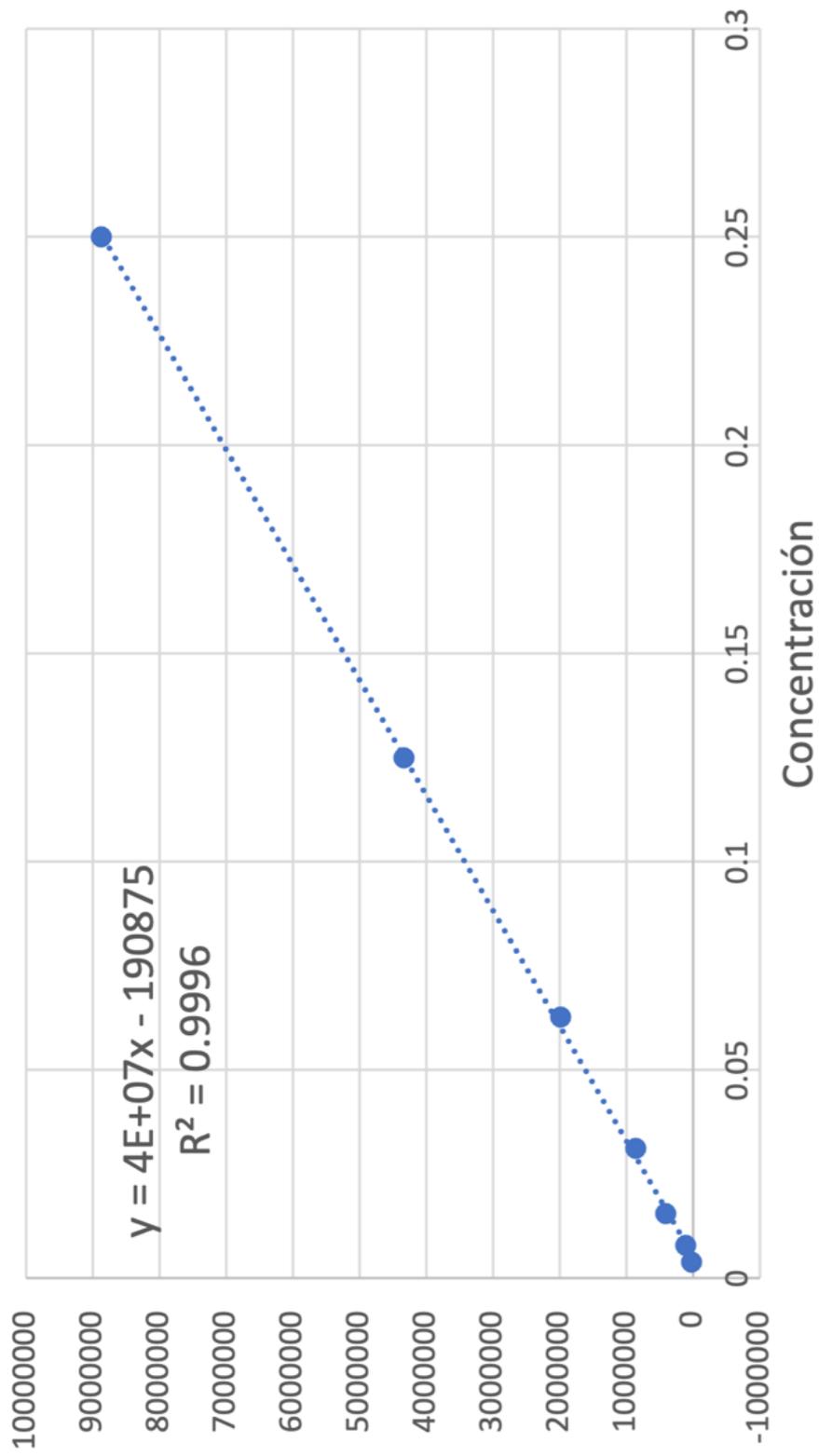


Imagen 11. Curva de calibración en HPLC de mangiferina

Curva de calibración Mangiferina



ANALISIS DE LOS EXTRACTOS

Para el extracto se analizó el extracto BIOMANGO y el extracto EXT. CEIB

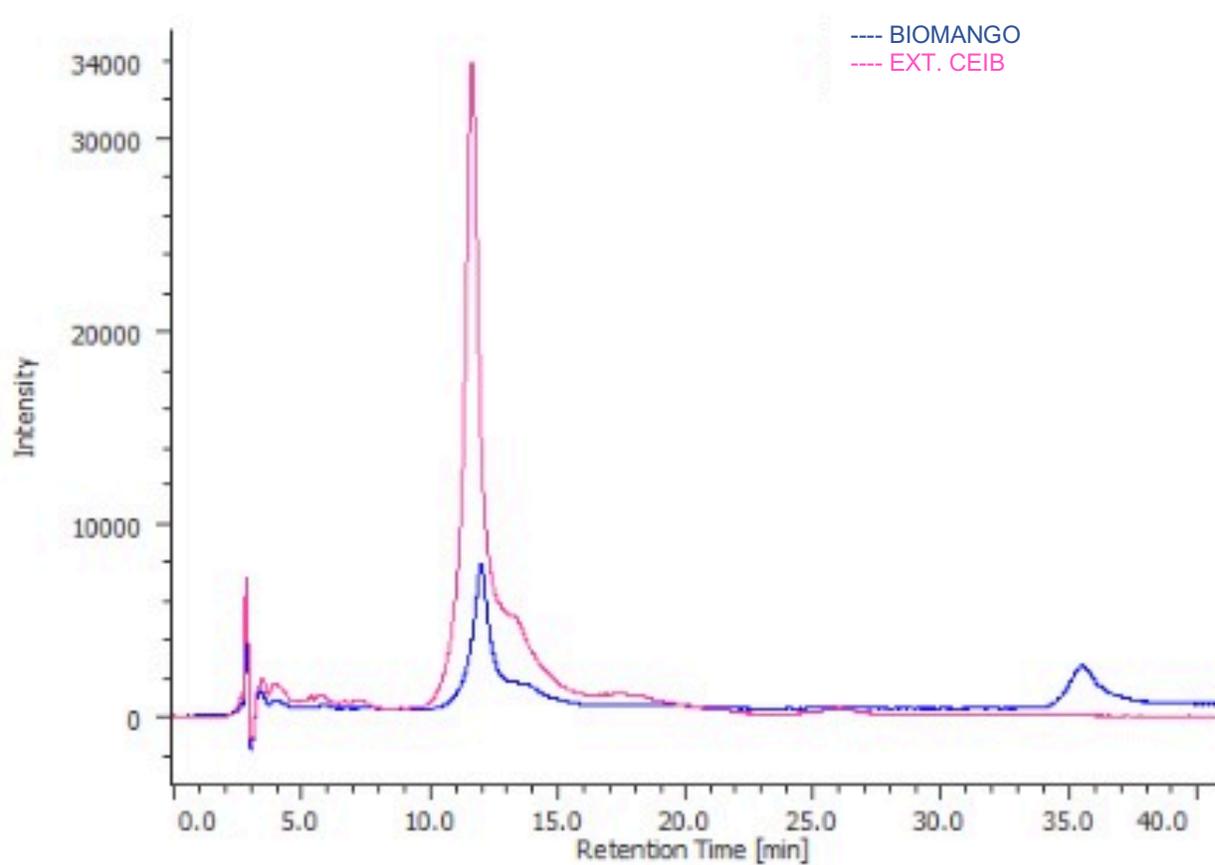


Imagen 12. Análisis HPLC de ambos extractos

El porcentaje de área promedio de 3 tantos de cada extracto

EXTRACTO	% DE AREA
BIO MANGO	313353.3333
EXTRACTO CEIB	1295800

ECUACION DE LA RECTA

Para poder obtener la concentración de Mangiferina en nuestro extracto se realizó la ecuación de la recta.

$$Y = m x + b$$

No sin antes verificar el coeficiente de correlación de nuestra curva de calibración, el cual fue de 0.9996

Se utilizó la siguiente ecuación despejada ya que nosotros estamos buscando la concentración de Mangiferina que en este caso sería la X para encontrar quedando el despeje de la siguiente forma:

$$X = (y - b) / m$$

Los siguientes son los valores asignados:

Pendiente (m) = 36151378.48

Intersección (b) = -190874.9527

BIOMANGO área (y) = 313353.33

EXT. CEIB área (y) = 1295800

Concentración BIO MANGO = 0.013947692

Concentración extracto CEIB= 0.041123603

El extracto madre, así como el estándar tuvo una concentración de 0.5mg/ml por lo que la concentración por mililitro se ve modificada de la siguiente forma

$$\underline{BIOMANGO 0.014 * 0.5 = 28 \text{ mg/g}}$$

$$\underline{EXT CEIB 0.041 * 0.5 = 82 \text{ mg/g}}$$

Los extractos muestran una evidente diferencia de concentraciones, sin embargo debemos considerar que el extracto BIOMANGO contiene una concentración de 75% de inulina y 25% extracto hidroalcohólico seco de hojas de *Mangifera indica*, mientras que el extracto EXT CEIB es u. extracto hidroalcohólico seco de hojas de *Mangifera indica* sin excipiente, por otro lado no se podría hablar sobre la diferencia en técnica ya que se desconoce del todo el proceso de extracción del extracto BIOMANGO por lineamientos de la empresa que lo realizó no se les permite compartir dicha información, sin embargo, el extracto EXT CEIB se realizó a través de sonicación dicho método ha registrado tener mejores rendimientos como en el estudio realizado por Lerma-Torres et al. en 2019.

Por lo que podemos concluir que las concentraciones obtenidas en el extracto BIOMANGO son equiparables a las reportadas por Samanta et al. 2019 y el extracto realizado en el CEIB muestra resultados similares a los reportados en Lerma-Torres et. Al. 2019

8. Elaboración de cápsulas

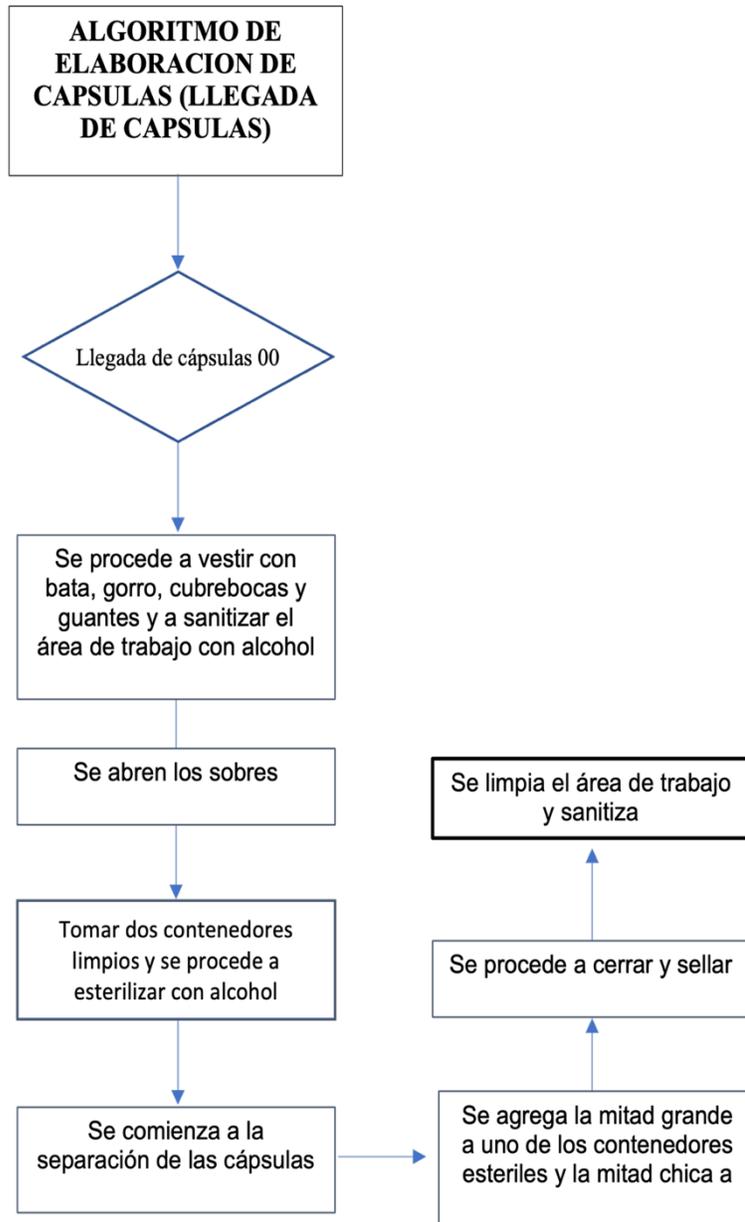
Las cápsulas se elaboraron con el fin de realizar futuras investigaciones, ya que con los resultados obtenidos pudimos observar que nuestro extracto contiene una concentración similar a las reportadas en estudios como Samanta et al. 2019 y Lerma-Torres et. Al. 2019, por lo que se procedió a su elaboración.

8.1. Algoritmos

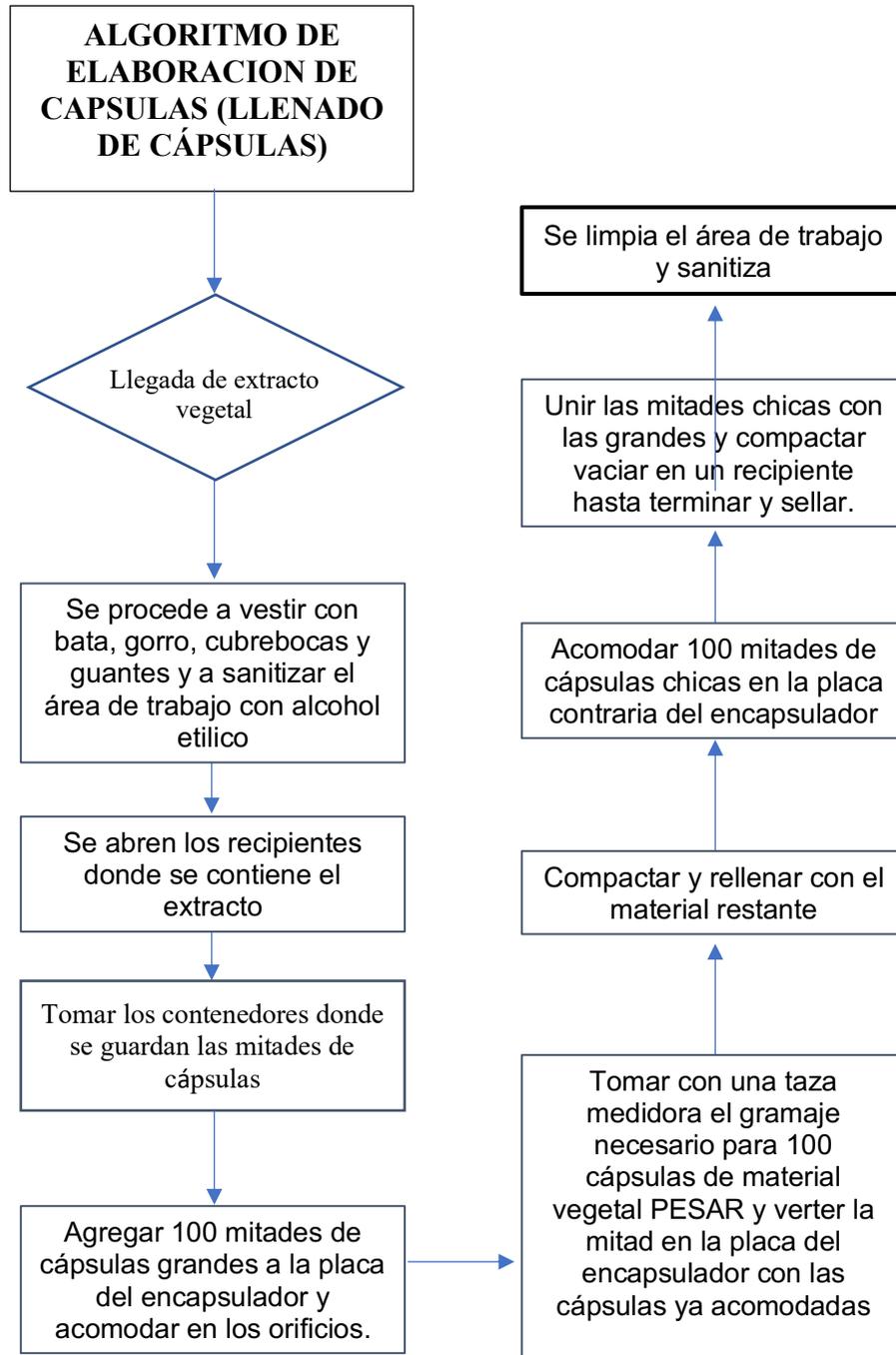
Con el fin de mantener las buenas prácticas de elaboración y cumplir con las normativas requeridas para suplementos alimenticios se establecen los procesos necesarios para la elaboración de cápsulas. (NOM- 251-SSA1-2009. Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios).

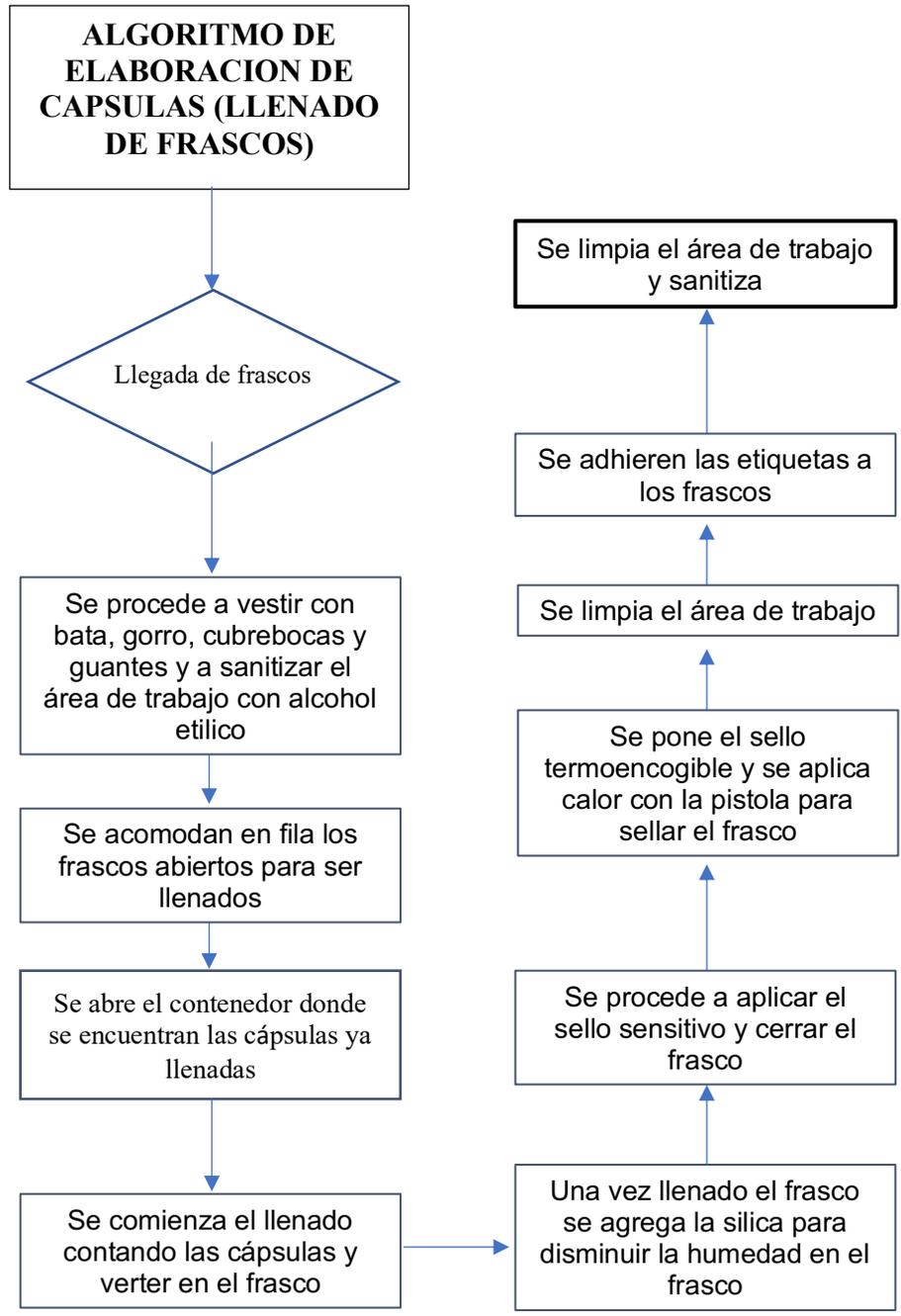
Desarrollándose en diferentes procesos de la siguiente forma:

- A.- Método mediante el cual las cápsulas que llegan son separadas y almacenadas para su uso posterior véase Algoritmo 1
- B.- Método mediante el cual las cápsulas son fabricadas durante este proceso se asegura el peso correcto de las mismas véase Algoritmo 2
- C.- Método mediante el cual las cápsulas son envasadas en los frascos para su posterior administración y/o comercialización véase Algoritmo 3



Algoritmo 1. Llegada de cápsulas





9. Análisis de resultados

RELEVAMIENTO FITOQUIMICO

Se puede observar que el relevamiento demostró la presencia de alcaloides, Cumarinas, Taninos, Triterpenos, como también se han observado en otros relevamientos realizados al extracto de hojas de *Mangifera indica* donde se evidenció la presencia de alcaloides, carbohidratos, fitoesteroles, resinas, fenoles, taninos, flavonoides y proteínas (Somkuwa et al. 2013, Sudha et al. 2012) demostrando que son metabolitos comunes dentro de la síntesis metabólica de la planta.

CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA

En la cromatografía se pudo observar la presencia de Mangiferina en el extracto, en correlación con la marca presentada en la columna identificada como estándar, adquirido como Mangiferina de la empresa SIGMA; la presencia de dicho compuesto corresponde con lo publicado acuñando la actividad terapéutica a esta molécula.

HPLC

En análisis por HPLC se evidenció la presencia de Mangiferina, donde además se desarrolló una curva de calibración para conocer la cantidad de Mangiferina presente en los extractos, permitiéndonos entonces desarrollar las cápsulas con un contenido conocido de la sustancia buscada y así estandarizar la cantidad necesaria del extracto, por su parte el extracto realizado de manera industrial presentó una concentración de 28mg/g mientras que el extracto realizado en el

CEIB tuvo una concentración de 82mg/g como se puede observar el rendimiento es similar al presentado en diversas publicaciones, el estudio de Samanta et al. 2019 reportó la presencia de .94 a 13.79 mg/g de Mangiferina en el extracto de hojas, en ese mismo estudio se reportó un promedio de 17.5mg/g de Mangiferina en diversas variedades, aunque la variedad Ladvo presentó 47.02mg/g de Mangiferina (Samanta et al. 2019).

Por lo que podemos concluir que nuestro extracto es similar a los promedios reportados.

10. Discusión

En el relevamiento pudimos observar que se obtuvieron resultados similares a los de Somkuwa et. Al y Sudha et. Al en donde se demuestra la presencia moderada de alcaloides, cumarinas y triterpenos, mientras que hay una evidente presencia de taninos resultados muy similares a los reportados y que demuestran que son parte del metabolismo propio de la planta.

Por su lado la cuantificación de Mangiferina reporto datos igual de alentadores observando cantidades similares en el extracto de BIOMANGO a los de Samanta et. Al y los resultados de el extracto realizado en el CEIB a través de sonicación tuvieron un mayor rendimiento, así como los reportados en Lerma-Torres et. Al.

11. Desarrollo de la marca

Con el fin de la distribución y venta del producto fitoquímico se procedió a realizar el desarrollo de una marca de suplementos alimenticios.

NOMBRE Y LOGOTIPO

Se busca generar un nombre que haga alusión al tipo de producto que se desea vender, sin embargo, el objetivo de la marca en un futuro es tener distintos tipos de productos y no sólo estar enfocados en la producción de extractos de mango, por ese motivo se desarrollan nombres alusivos pero genéricos, se desarrollan lluvia de ideas y revisión en el IMPI para generar la marca.



Una vez establecido el nombre de la marca se procede a realizar el registro de esta.



IMPI
INSTITUTO MEXICANO
DE LA PROPIEDAD
INDUSTRIAL

TITULO DE REGISTRO DE MARCA

Registro 2360750

B-HOS



EXPEDIENTE: **2651341** FECHA DE PRESENTACIÓN: **22/Noviembre/2021 6:06:41 PM**
FECHA DE VIGENCIA: **21/Febrero/2032**
TITULAR: **ZAINE CUELLAR KARAM**
DOMICILIO DEL TITULAR: **CEIBA NUM. EXT. 432 NUM. INT. A, FLORESTA VERACRUZ, VERACRUZ 91940 MEXICO**
CLASE: **5**
SE APLICA A: **PRODUCTOS FARMACEUTICOS; PREPARACIONES PARA USO MEDICO Y VETERINARIO; PRODUCTOS HIGIENICOS Y SANITARIO PARA USO MEDICO; ALIMENTOS Y SUSTANCIAS DIETETICAS PARA USO MEDICO O VETERINARIO; ALIMENTOS PARA BEBE; SUPLEMENTOS ALIMENTICIOS PARA PERSONAS O ANIMALES**

TOTAL DE VIENA **8**
CODIGOS DE VIENA **5.3.11, 5.3.14, 27.5.1, 27.5.5, 27.5.10, 27.7.1, 27.7.11, 27.7.17**

La impresión del signo distintivo en este título, puede presentar variaciones en el tono de los colores respecto al presentado en la solicitud de registro.

El registro de referencia se otorga con fundamento en los artículos 1, 2, fracción I, 5, fracción I, 230 y 231 de la Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial.

De conformidad con el artículo 178 de la Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial, el presente registro tiene una vigencia de diez años contados a partir de la fecha de su otorgamiento y podrá renovarse por periodos de la misma duración, en términos de lo establecido en los artículos 233 y 237 del mismo Ordenamiento Legal.

Quien suscribe el presente título lo hace con fundamento en los artículos PRIMERO y CUARTO TRANSITORIOS, 2, fracción I, 5, fracción I, 9, 10, 17, 18 y 21 de la Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial; 3, 4, 5 BIS, 13, 14 y 15 del Reglamento de la Ley de la Propiedad Industrial; 1, 3, fracción V, inciso b), subíndice i), primero y segundo guion, subíndice ii), primero y segundo guion, subíndice iii), primero, segundo y tercer guion, subíndice iv), primero y segundo guion, según corresponda; 4, 5, 11, fracción II y último párrafo, así como 13, fracción III del Reglamento del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial; 1, 3, 4, 5, fracción V, inciso b), subíndice i), primero y segundo guion, subíndice ii), primero y segundo guion, subíndice iii), primero, segundo y tercer guion, subíndice iv), primero y segundo guion, según corresponda; 15, fracción II, así como último párrafo, 17, fracción III, 26, 28 y 31 del Estatuto Orgánico de este Instituto; y PRIMERO TRANSITORIO, 1, 3 y 6, fracción I), así como párrafos antepenúltimo y penúltimo del Acuerdo Delegatorio de Facultades del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial.

Los Ordenamientos Legales antes citados, así como sus respectivos Decretos, Acuerdos, Aclaraciones y Notas Aclaratorias que los reformaron, adicionaron o derogaron, según corresponda, fueron debidamente publicados en el Diario Oficial de la Federación, precisando que los mismos se encuentran vigentes a la fecha de emisión del presente título.

El presente documento electrónico ha sido firmado mediante el uso de la firma electrónica avanzada por el servidor público competente, amparada por un certificado digital vigente a la fecha de su elaboración, y es válido de conformidad con lo dispuesto en los artículos 7 y 9, fracción I de la Ley de Firma Electrónica Avanzada; 12 de su Reglamento, así como 69-C de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo.

CIUDAD DE MÉXICO, A 21 DE FEBRERO DE 2022
COORDINADORA DEPARTAMENTAL DE EXAMEN DE MARCAS 'B'



PaR1/13-H0TPV5AJ2Meux6U+r3p5s2mH1L2X12cXr/BB00]exY88PH/CT66h0s1g84r/sBCT
r2R0n01ib3u0U0v0g0e0+0M0B1E0F0012S011L11211C0L0P0r0r0ng0m0D020h0GA
JA1foz/2580M1s0w1180x10320h0P0L0K0y/0P0y1P/0N0u0d718rF0M0F0av0G0Z0z30e0L11Z
/R/7p0K0/MS0p07LV0G0J0m0QL0EV0K0C0m0r270m0k0p0B020m0m0t+1C0d0r2v0E0S0L0g0
C4VqM0M0V01Yp2f1DL7t072M0A1/02u07P0m0



20220194059

100

1 de 1

LIC. MARIA DEL SOCORRO JIMENEZ VILLELA

11.1. Imagen y etiqueta

Obtenido el registro de marca se procede a realizar la imagen de las etiquetas con el fin de establecer una imagen corporativa y de ventas.

Se desarrollan diferentes diseños y se llega a la etiqueta final



12. Conclusión

Los resultados obtenidos demuestran que la variedad Manila en la región de Soledad de Doblado, Veracruz presenta concentraciones similares a las reportadas y que el método de extracción puede modificar la concentración de nuestro producto final, aunque desconocemos el método industrial que se ocupó se pudo observar que el método de sonicación mejora los rendimientos obtenidos.

El mango es un árbol mundialmente conocido, su fruto solo tiene una temporada al año, sin embargo, con estos estudios se pudiera prospectar el uso de sus hojas

apoyando a los agricultores de nuestro país para obtener beneficios de este árbol no sólo en una temporada al año; como se pudo observar el rendimiento de Mangiferina en los extractos son similares a los establecidos en otros estudios, además el desarrollo de empresas y marcas de suplementos alimenticios conscientes sobre las sustancias y dosis son importantes ya que la industria de suplementos se ha llenado de “productos milagro” que han desvalorizado el empleo de plantas medicinales como un coadyuvante en la terapéutica de los pacientes.

13. Referencias bibliográficas.

1. Chen, S.-L., Yu, H., Luo, H.-M., Wu, Q., Li, C.-F., & Steinmetz, A. (2016). Conservation and sustainable use of medicinal plants: problems, progress, and prospects. *Chinese Medicine*, 11(1).
<https://doi.org/10.1186/s13020-016-0108-7>
2. Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R., & Wu, H. (2020). The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 148, 80–89.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>
3. :: Términos - Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana ::
Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (n.d.).
Www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx. Retrieved April 27, 2023,
from
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=mango>
4. and, O. Somkuwar. (2013). PHYTOCHEMICAL SCREENING OF ETHANOLIC EXTRACTS OF STEM, LEAVES, FLOWER AND SEED KERNEL OF MANGIFERA INDICA L. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*.
5. Sudha Madhuri, A., & Mohanvelu, R. (2017). Evaluation of Antidiabetic Activity of Aqueous Extract of Mangifera Indica Leaves in Alloxan Induced Diabetic Rats. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 10(02), 1029–1035. <https://doi.org/10.13005/bpj/1200>
6. Lerma-Torres, J. M., Navarro-Ocaña, A., Calderón-Santoyo, M., Hernández-Vázquez, L., Ruiz-Montañez, G., & Ragazzo-Sánchez, J. A.

- (2019). Preparative scale extraction of mangiferin and lupeol from mango (*Mangifera indica* L.) leaves and bark by different extraction methods. *Journal of Food Science and Technology*, 56(10), 4625–4631. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03909-0>
7. Ravelo, A. G., & Ana Claudia Braun. (2009). Relevancia de los productos naturales en el descubrimiento de nuevos fármacos en el s.XXI. *Revista de La Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas Y Naturales*, 103(2), 409–420.
 8. Chanda, S. (2014). Importance of pharmacognostic study of medicinal plants: An overview. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5), 69–73.
 9. Kumar, M., Saurabh, V., Tomar, M., Hasan, M., Changan, S., Sasi, M., Maheshwari, C., Prajapati, U., Singh, S., Prajapat, R. K., Dhumal, S., Punia, S., Amarowicz, R., & Mekhemar, M. (2021). Mango (*Mangifera indica* L.) Leaves: Nutritional Composition, Phytochemical Profile, and Health-Promoting Bioactivities. *Antioxidants*, 10(2), 299. <https://doi.org/10.3390/antiox10020299>
 10. Ediriweera, M. K., Tennekoon, K. H., & Samarakoon, S. R. (2017). A Review on Ethnopharmacological Applications, Pharmacological Activities, and Bioactive Compounds of *Mangifera indica* (Mango). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, 1–24. <https://doi.org/10.1155/2017/6949835>
 11. Rural, S. de A. y D. (n.d.). *El rey de las frutas tropicales: Mango*. Gob.mx. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/el-rey-de-las-frutas-tropicales-mango>

12. Ybañez-Julca, R. O., Asunción-Alvarez, D., Quispe-Díaz, I. M., Palacios, J., Bórquez, J., Simirgiotis, M. J., Perveen, S., Nwokocha, C. R., Cifuentes, F., & Paredes, A. (2020). Metabolomic Profiling of Mango (*Mangifera indica* Linn) Leaf Extract and Its Intestinal Protective Effect and Antioxidant Activity in Different Biological Models. *Molecules*, 25(21), 5149. <https://doi.org/10.3390/molecules25215149>
13. Samanta, S., Chanda, R., Ganguli, S., Reddy, A.G., & Banerjee, J. (2019). Anti diabetic activity of mango *Mangifera indica* a review.
14. Tawaha, K., Sadi, R., Qa'dan, F., Matalka, K. Z., & Nahrstedt, A. (2010). A Bioactive Prodelphinidin from *Mangifera indica* Leaf Extract. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 65(5-6), 322–326. <https://doi.org/10.1515/znc-2010-5-603>
15. Zhang, Y., Chen, Q., Liu, M.-Y., Ruan, J.-Y., Yu, H.-Y., Li, J., & Wang, T. (2019). Effects of Benzophenones from Mango Leaves on Lipid Metabolism. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 67(7), 634–639. <https://doi.org/10.1248/cpb.c18-00905>
16. Maldonado-Astudillo, Y. I., Navarrete-García, H. A., Ortiz-Morales, Ó. D., Jiménez-Hernández, J., Salazar-López, R., Irán Alia-Tejacal, & Alvarez-Fitz, P. (2016). PROPIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS Y ANTIOXIDANTES DE VARIEDADES DE MANGO CRECIDAS EN LA COSTA DE GUERRERO. *Revista Fitotecnia Mexicana*. <https://doi.org/10.35196/rfm.2016.3.207-214>
17. Medina Ramírez, N., Monteiro Farias, L., Apolonio Santana, F., Viana Leite, J. P., De Souza Dantas, M. I., Lopes Toledo, R. C., De Queiroz, J. H., Stampini Duarte Martino, H., & Machado Rocha Ribeiro, S. (2016).

- Extraction of Mangiferin and Chemical Characterization and Sensorial Analysis of Teas from *Mangifera indica* L. Leaves of the Ubá Variety. *Beverages*, 2(4), 33. <https://doi.org/10.3390/beverages2040033>
18. Barreto, J. C., Trevisan, M. T. S., Hull, W. E., Erben, G., de Brito, E. S., Pfundstein, B., Würtele, G., Spiegelhalder, B., & Owen, R. W. (2008). Characterization and Quantitation of Polyphenolic Compounds in Bark, Kernel, Leaves, and Peel of Mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(14), 5599–5610. <https://doi.org/10.1021/jf800738r>
19. Sferrazzo, G., Palmeri, R., Vanella, L., Parafati, L., Ronsisvalle, S., Biondi, A., Basile, F., Li Volti, G., & Barbagallo, I. (2019). *Mangifera indica* L. Leaf Extract Induces Adiponectin and Regulates Adipogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(13), 3211. <https://doi.org/10.3390/ijms20133211>
20. Mohan, C., Deepak, M., Viswanatha, G., Savinay, G., Hanumantharaju, V., Rajendra, C., & Halemani, P. D. (2013). Anti-oxidant and anti-inflammatory activity of leaf extracts and fractions of *Mangifera indica*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 6(4), 311–314. [https://doi.org/10.1016/s1995-7645\(13\)60062-0](https://doi.org/10.1016/s1995-7645(13)60062-0)
21. Toledo, R. C. L., Brito, L. F., Caetano, M. M. M., Nakajima, V. M., Silva, B. P. da, Soares, F. E. de F., Martino, H. S. D., & Queiroz, J. H. de. (2019). Acute treatment with *Mangifera indica* L. leaf extract attenuates liver inflammation in rats fed a cafeteria diet. *Food & Function*, 10(8), 4861–4867. <https://doi.org/10.1039/C9FO00651F>

22. Arthénice Jemima Nounamo Guiekep, Augustave Kenfack, Ferdinand, N., Bertin Narcisse Vemo, Kenmeuhe Sidje Nguemmeugne, & Etienne Pamo Tedonkeng. (2019). Attenuating effects of *Mangifera indica* leaves ethanolic extract against acetamiprid induced reproductive toxicity in male guinea pigs. *Veterinary Research Forum : An International Quarterly Journal*, 10(3), 187–192.
<https://doi.org/10.30466/vrf.2019.95154.2292>
23. Villas Boas, G. R., Rodrigues Lemos, J. M., de Oliveira, M. W., dos Santos, R. C., Stefanello da Silveira, A. P., Bacha, F. B., Agüero Ito, C. N., Cornelius, E. B., Lima, F. B., Sachilarid Rodrigues, A. M., Costa, N. B., Bittencourt, F. F., Freitas de Lima, F., Paes, M. M., Gubert, P., & Oesterreich, S. A. (2019). Preclinical safety evaluation of the aqueous extract from *Mangifera indica* Linn. (Anacardiaceae): genotoxic, clastogenic and cytotoxic assessment in experimental models of genotoxicity in rats to predict potential human risks. *Journal of Ethnopharmacology*, 243, 112086.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112086>
24. Wightman, E. L., Jackson, P. A., Forster, J., Khan, J., Wiebe, J. C., Gericke, N., & Kennedy, D. O. (2020). Acute Effects of a Polyphenol-Rich Leaf Extract of *Mangifera indica* L. (Zynamite) on Cognitive Function in Healthy Adults: A Double-Blind, Placebo-Controlled Crossover Study. *Nutrients*, 12(8), 2194.
<https://doi.org/10.3390/nu12082194>
25. López Mantecón, A. M., Garrido, G., Delgado-Hernández, R., & Garrido-Suárez, B. B. (2013). Combination of *Mangifera indica* L. Extract

- Supplementation Plus Methotrexate in Rheumatoid Arthritis Patients: A Pilot Study. *Phytotherapy Research*, 28(8), 1163–1172.
<https://doi.org/10.1002/ptr.5108>
26. Fotie, J., & Bohle, D. (2006). Pharmacological and Biological Activities of Xanthones. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry*, 5(1), 15–31.
<https://doi.org/10.2174/187152106774755563>
27. Bulugonda, R. K., kumar, K. A., Gangappa, D., Beeda, H., Philip, G. H., Muralidhara Rao, D., & Faisal, S. M. (2017). Mangiferin from *Pueraria tuberosa* reduces inflammation via inactivation of NLRP3 inflammasome. *Scientific Reports*, 7(1).
<https://doi.org/10.1038/srep42683>
28. Saleh, S., El-Maraghy, N. N., Reda, E., & Barakat, W. (2014). Modulation of Diabetes and Dyslipidemia in Diabetic Insulin-Resistant Rats by Mangiferin: Role of Adiponectin and TNF- α . *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 86(4), 1935–1948. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201420140212>
29. Szandruk, M., Merwid-Ląd, A., & Szelağ, A. (2018). The impact of mangiferin from *Belamcanda chinensis* on experimental colitis in rats. *Inflammopharmacology*, 26(2), 571–581.
<https://doi.org/10.1007/s10787-017-0337-0>
30. Li, H., Chen, Z., Zhong, X., Li, J., & Li, W. (2019). Mangiferin alleviates experimental peri-implantitis via suppressing interleukin-6 production and Toll-like receptor 2 signaling pathway. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s13018-019-1387-3>

31. Masanobu Tsubaki, Takeda, T., Kino, T., Itoh, T., Motohiro Imano, Tanabe, G., Muraoka, O., Takao Satou, & Nishida, S. (2015). Mangiferin suppresses CIA by suppressing the expression of TNF- α , IL-6, IL-1 β , and RANKL through inhibiting the activation of NF- κ B and ERK1/2. *American Journal of Translational Research*, 7(8), 1371–1381.
32. Torres M. A, Ibarra M. C. M, Martinez, Diaz de Salas. (2008). Estudio Fitoquímico de las Plantas Medicinales propias del Estado de Querétaro. Universidad Autónoma de Zacatecas, Universidad Autónoma de Querétaro.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Cuernavaca, Morelos, a 30 de marzo del 2023.

VOTOS APROBATORIOS DE TESIS

Los integrantes de la Comisión Revisora de la tesis titulada: "**Cuantificación de mangiferina en extracto hidroalcohólico de *Mangifera indica* (hojas) y elaboración de remedio fitoquímico**", que presenta la **C. Zaine Cuellar Káram**, del Programa de Posgrado Maestría en Investigación y Desarrollo de Plantas Medicinales, bajo la dirección de la DRA. GRISELDA GARCÍA ALONSO y codirección de la DRA. MARÍA LUISA TERESA VILLAREAL ORTEGA, han determinado que el documento reúne los requisitos académicos para su defensa oral en el examen de grado, por lo que emiten su **VOTO APROBATORIO**.

Comisión Revisora de tesis (firma electrónica)

Dra. Griselda García Alonso – Directora de tesis

Dra. María Luisa Teresa Villareal Ortega – Codirector de tesis

Dr. Antonio Monroy Noyola

Mtro. José Fernando Mariscal Durand

Mtra. Sofía del Carmen Pérez Vilchis





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

GRISELDA GARCÍA ALONSO | Fecha:2023-05-09 13:45:22 | Firmante

V83PgZQ9Rr56XYIH566FYz8SMKRv3OQvqisWVnY4MkyYxAmZKbF1u9Tqh3XY1kkwrTBflqE5Zr2Njghu2oQ7EhdgifiHSxxqcl025j0v/bzOvW1EnUONIQQJiFwRjQvbdex2RCc4aPzNw3d+SdjOFqnH0LjixG92HzkQ5tY2i+4Ot/Dp+MFI/6FaoAwx3orrMvVoQtN14Extc/Nyq1HvsrjEbVQHd6ubs4ewkmGQQw+isaGK6ReKvOBBS9T+J4Rjgv4GyM43DdvYSEEdIvGK4G/E/Qb+mbz1zLUn/iMDRjivUwQz+3likw245KXoMnZUYeTNzmNjgKXvr5YJpBxfY+Q==

ANTONIO MONROY NOYOLA | Fecha:2023-05-09 16:00:40 | Firmante

u/xtSriudum9WkixpGsW2M5D0Yj68Q8L2kF8u3IZ05xnHXXDm9/kFaRou7v0uKlfpMMC8bRmHSHsBQs21GIXdOJ/9ux2/TFMA7EYpSmBXVG4vGITLrmVeQ9ZwGB4//09GrX0//gYnkiiGwLMWznKsb1MR/1L1jzhLE/4sOy59S4uRWHC4HcYlcrYsUt+XT4XoYcSkC+3qfyN2WN/gNXMHcGscck/Qt2OwV8qvJmtlQHfbAPNFyUlaSXL1T5IJOUP+TnchasJVC35+176ifx6FY5t7eX19Ojcf+XkHLp/zdAIKTRgBKdkt/KuyvgjffH8y8ZT5K+rF4EoZx5NMw==

MARIA LUISA TERESA VILLARREAL ORTEGA | Fecha:2023-05-11 10:32:47 | Firmante

f+o64ZKIMyatBxFoMC6jIQCQCNGuSjCBUhbUKKdy/z4iqmolEJa2chUa0ETpOOAn2snKX6klK9LSAw7SkT9Dc+xRI8fjr4tBOGn8O1hbFBeNAOC8qldtFXd8x/asllrDUMXW+WzQD2jDGjnZuqq3WX93OciwvJemkslkuNlScPuWhJuwSIUHfOFv7hrytvyPORPplI7XXuo5JewKWpuTK0blex1sG24/KdBvtZm5erM5Kddh1UySCgYP20KHdKYJwC7IIEQ4gZnJNHVhMMp3oXRBpmeU2XTHj/9rctosOw8YdYeyUFcv0O7XX/f7EJwXyZEnAGP4WocTcBw+YEA/A==

JOSE FERNANDO MARISCAL DURAND | Fecha:2023-05-16 13:28:01 | Firmante

sAva+UNUDGNzFTU0Det3dGXloC/cMi7EDlzu+Agpgju82Lvr3kvUGGIZcof6uTNbiOpsR+CXsaryEdZ9NjOqHoGa/wsOKg/AuXRtoEecDK5iZ0Tt4oiMPy1jzRPWILfjjKPKc6Ah6sbi hpCNjoiznv1+MmG3ijClggxOwbocCdXTKLZlw4kV4WYOX/Z0muQAZ6WXHuxXALsE16nmfj7Qg/82cN7IMFJhDEJw4XAXEg026H4v2mnEILIOQkwppP+nhQ8Yh0H9xpWonwd1 tZCmZf6Nf9tTcSyaf9sRN3DVpVeMvqJfN+LqsWGIExcFTj13W6au4djLROtVqb3yg==

SOFÍA DEL CARMEN PÉREZ VILCHIS | Fecha:2023-05-16 19:45:32 | Firmante

WYRQrrw6+NWxtEydhvIP/dVIX7jPskEbfAv9d6fNYep5GwwzNTZfI/1ND33vzwETqYZ2/t4TDOV2avRT9xIPUETI3/z2ADWYi3QbJKZax8WZQ3IVVVV1V5YBaU8hohxeYFFOhs MMfQJU6HZKLtWP4BQUODp3vBXmAgX8mU33YsjhBuAJvG5uHX+4FLvEhJ7EHRqngEbtGJHMdGg4IKgoas3zw8Orklq5z2U5XETxy1BlkwREQc+qM5H0e2HUVkjBkdnC7HkEL OqqgUBOMi1tRUUWAxcr/JUKpoO/yKc2NpevFsRdUDZ26ilHxe1xKhFbl/nWYwmiDV2ZtowN25A==

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



Y3WKxhIdD

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/FaWculfM2AGhOGglzwxZII5T2b4yvWh5>

