



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

ESCUELA DE ESTUDIOS SUPERIORES DEL JICARERO

**ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA Y
ANTIMICROBIANA DE *Prosopis laevigata***

**TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS
PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN BIOLOGÍA**

**P R E S E N T A:
PAULINA HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ**

DIRECTOR DE TESIS

DR. DAVID OSVALDO SALINAS SÁNCHEZ

CODIRECTOR

DR. MANASÉS GONZÁLEZ CORTAZAR



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS



El Jicarero, Jojutla, Morelos, 28 de Octubre del 2021.

**DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
PRESENTE.**

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta la Pasante de Licenciado en Biología: **C. HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ PAULINA**, con el título del trabajo : **ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA Y ANTIMICROBIANA DE *Prosopis laevigata***

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: SI

VOTO EN CONTRA: _____

NECESITA ARREGLAR O ELIMINAR ALGO: _____

COMENTARIOS: _____

FIRMA

Dr. Dante Avilés Montes _____

Dr. Rodolfo Abarca Vargas _____

Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez _____

Dr. Juan Carlos Juárez Delgado _____

Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez _____

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

DAVID OSVALDO SALINAS SANCHEZ | Fecha:2021-10-28 13:11:43 | Firmante

NjibTGSRIAAGyNr+84r6VoydqeGMF07dKc1iH1phGvTwC3q5EUOZdP0X2xEHVGKLNH9JlvtNv9YeXiVPTZRzaiQyXsCYJYP+69DZwxT2HgdKMs98UKyavlrEFpBfkFsZiBbc5HO7UCk/skviNT+fdX/P4Ju/eKMPw/En1oxvUziL/vltkVBwVFECmzjSj8j3t1QjGvG/d020xO8jhGpEarNVV79wrQwJRozBEXAVJ4hGIX9K+rCrWVOVBAVD0B3viYtVWsDJ80oEWsR7NVGQreG27ARa2+9IKlqDJTCC3nJFxxu7dVjllWCfXLYZTbEOTpXwf9FSy8WwWliverneE1mg==

JUAN CARLOS JUAREZ DELGADO | Fecha:2021-10-28 13:39:14 | Firmante

ObW/g5L30shexWxUdsOPuW+rN3vUvcfl/IgSwYJZy6Ko2L1t95hveZUCanxqL6vUTeWZ1E0e1XMkUd/SkcOQdHA7y5Vp4Deur69K//y8j88ksfh+tGIF9x988JWgOg/QRAWw+K0McdtwP/pUA4NhOZRK3c9oht+MCdSa5XRzZpX66CpUT+QTcwWdk5Vsikvad9NGufQLIXUHcDqMzEhby+Pa8rlhFCt1Mhb9DnlKmdOOGRA+QqL2Wwf+0+DKm2OE5nCzjFKMxttlZbBeVpQjdTahIP9jS3o/mOBv7CS9EuXnNZFAiAibvOOHs4YyKWCFFAKYKd8lv9w08qP1LA==

ALEJANDRO ZAMILPA ÁLVAREZ | Fecha:2021-10-28 13:41:57 | Firmante

PR7JMetzs0gJ0dHx/abmbN/awLomlqfvrR867cjY9+0e7CtXTEVvIVAa1tAcBdklCF6m+9NXFKlw3cToZy5YZ5tRX3aslUgWf4BOPf+2E2sarcUhn+FSaj3qj2pp4SUFu6nhpvyMcG56w4AlgrFkE/sIQ5d9tEV4byvF05Bt1YP7gh5aFbdKL+w4Bdy/TvSJPPYUJ2Eu5oeQgkM/K7BMjblIAvdnVKSZRqNxpRkGixQQd7oHSU3dyZVhjszgKsa4+FtE9g7h/zAYbkHA+6yUCebxD8OktRSPr0JUUnhED6Whi+JLARmKNfMTISJbdMfMDnXUIWmZuESGP/g==

DANTE AVILES MONTES | Fecha:2021-10-28 13:45:34 | Firmante

vT16Z8p0RsHlef+DLgxtWYLIu1MuUhpikvE2Dfh5/wp3nvwLqxNalXJKZ7ViojBh+a5wIPiczChhjYKQHgOT8y+CSqpxGa1npXRncVaYIO32wstTGaUW0m12txM0th3JJ2dG8pTM1a4C+CxUkQhDhZxjJ3oAzR1NzvSS2GFj5Bhbg+uBVDpQFfR8dxBhKz44fx2CtI0Zgv0y93ard0HPijJQfg3sSqtRoWYVGVbhnUgKblFKf1/Yo11z5oAq3LwP57LUP7Inr39f7ZwYiu6I0JSUhiA76kGKRpfLmBRbmpRyZ68UXhAla9MSObRap1Z1/1aaHKoskfAlpLgw==

RODOLFO ABARCA VARGAS | Fecha:2021-10-28 13:46:51 | Firmante

cNK0T6brAmGtYoiQgNOO7tlBgwEgCIPMPvYHhOPkxjeC0alPSPz5E3lj/n9eoLhAa/QDwYo3BhmgN39+VAafhTlxJIW65z/XJcOXFAoRbNj9yPxyE6P8O9DsyV8yWm/U3EkDcYfs5GeXsxU8vUJAqeTrUFjdKSFbxt7BI/JqytGJOMt8r4yAmbB6tlFC6mNEK7SY6tk5xBzSbbiWxJz7jnRUCxS1dJGUHMzkJeRm6GFrkdQJLCEiXDUKXhLgG44MMZctfBCWluKnGh0LOVDEOstgDOKEU2Um/sFw6OosVfuUygy1uWPH5V3I0YqpnAYiJofrHBPmtw/ZxIMnEtaQ==

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



xU5JoAhn0

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/AhmK8krmSfVL0PkIRdgl8ZBZIUfS2v5C>

El presente trabajo se realizó en:

**Centro de
Investigación
Biomédica
del Sur**



**Centro de Investigación Biomédica del Sur del
Instituto Mexicano del Seguro Social.**

**Departamento de Farmacología, Fitoquímica y
Microbiología**

Xochitepec, Morelos



**Centro de Investigación en Biodiversidad y
Conservación**

Laboratorio de Fitoquímica y Productos Naturales

Universidad Autónoma del Estado de Morelos

Lo único imposible es aquello que no se intenta

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. David Osvaldo Salinas, por brindarme su paciencia, confianza y apoyo, así como todo el tiempo académico que me ha dedicado durante el transcurso de este trabajo de investigación. Por ser un profesor fabuloso, un ejemplo académico a seguir, una excelente y valiosa persona.

Doctor David, muchas gracias.

Al Dr. Manasés González, quien desde el momento en el que lo conocí me dedico apoyo, tiempo, paciencia y enseñanzas durante mi estancia en el laboratorio CIBIS. Gracias por todos los conocimientos que me ha brindado durante todo este tiempo y por impulsarme en estudiar una maestría. Doctor Manases, muchas gracias.

Al Dr. Alejandro Zamilpa, director del CIBIS. Por brindarme esta oportunidad valiosa como estudiante, para poder desarrollar el trabajo de laboratorio de esta investigación. en el CIBIS.

Doctor Zamilpa muchas gracias.

A la Dra. Maribel Herrera, quien es una persona muy paciente y audaz para impartir sus conocimientos hacia los estudiantes. Por esos conocimientos, Dra. Maribel, muchas gracias.

A la Dra. Ma. Dolores Pérez, por las enseñanzas que me ha brindado y el apoyo importante que ha sido en el laboratorio de microbiología. Dra. Lolita, muchas gracias.

Al Dr. Enrique Jiménez, por ser una pieza fundamental en este trabajo de investigación y por ayudarme en el laboratorio cuando lo necesitaba. Dr. Ferrer, muchas gracias.

Al Dr. Rodolfo Abarca, porque ha sido de gran apoyo durante el desarrollo de este trabajo de investigación. Dr. Rodolfo, muchas gracias.

Al Dr. Dante Avilés, por brindarme apoyo y paciencia, así como por ser un excelente Doctor y profesor al momento de enseñar al alumno. Dr. Dante, muchas gracias.

Al M. C Juan Carlos Juárez, por ser un apoyo durante la elaboración de esta investigación. Por darme ánimos para continuar estudiando. Dr. Juan, muchas gracias.

Al Dr. Cesar Sotelo. Por su confianza y enseñanzas impartidas durante mi estancia en el laboratorio de fitoquímica del CIByC. Por los consejos brindados para continuar estudiando. Dr. Cesar, muchas gracias.

Al M. en C. Gabriel Flores. Por su excelente trabajo en la identificación de la planta en estudio. Por su impecable labor en el montaje de la planta para su conservación y almacenamiento en el herbario. Maestro Gabriel, muchas gracias.

Al Dr. Juan Manuel Rivas director de la Escuela de Estudios Superiores del Jicarero. Por su confianza, enseñanzas impartidas, apoyo y su arduo trabajo para mejora de la sede universitaria. Por ser un excelente profesor y director. Dr. Rivas, muchas gracias.

A las y los Profesores de la Escuela de Estudios Superiores del Jicarero, en especial a la Mtra. Isaura Quintanilla, Dra. Ofelia Sotelo, Médico Xóchitl Atzimba, I.B.Q. María de los Ángeles Núñez y el Dr. Humberto Flores, por todas las enseñanzas brindadas dirigidas a la formación académica como excelentes biólogos. Profesores (as) de antemano muchas gracias.

A mis compañeros estudiantes del laboratorio del CIBIS y CIByC, quienes me apoyaron durante mi estancia en el laboratorio. Muchas gracias.

A mis compañeros estudiantes de la Licenciatura en Biología, quienes me acompañaron durante mis estudios universitarios y quienes están dispuestos a hacer lo que este es sus manos sobre el cuidado del planeta tierra. Muchas gracias.

A la UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS, por ser una importante institución para la formación de nuevos académicos o investigadores.

A la ESCUELA DE ESTUDIOS SUPERIORES DEL JICARERO que me ha preparado académicamente y a formado como un profesional de Licenciatura en Biología.

AI CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DEL SUR, por recibirme a puertas abiertas para el desarrollo de esta investigación.

AI CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN, por recibirme y ser parte de mi formación académica.

DEDICATORIA

A **Dios** por guiar mis pasos y por permitirme cumplir una meta más de vida.

A mis padres **María Hernández Trinidad** y **Rafael Hernández López**, quienes me han educado y han hecho de mí una buena persona, enseñándome siempre con excelentes valores, por brindarme tanto amor y momentos llenos de felicidad. Los admiro bastante, son completamente mi inspiración y la razón de mi día a día. Los amo para siempre.

A mi hermana **Andrea Hernández Hernández** y a mi hermano **Eduardo Hernández Hernández** por siempre brindarme amor, compañía, felicidad, diversión y hacer de mi mundo un lugar mejor. Los amo para siempre.

A mi abuelo **Raúl Hernández Flores** quien siempre me apoya y me aconseja en todo momento.
Te amo abuelito.

A mi abuela **Irene López Velazco**[†], que siempre fue para mí como una mamá, me cuidaste y brindaste tanto, tanto amor, me enseñaste lo mejor de esta vida. Te amo para siempre abuelita donde sea que te encuentres.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Inflamación	3
2.1.1 Clasificación.....	3
2.1.2 Tratamiento farmacológico.....	4
2.1.3. Fundamento del modelo de inflamación auricular	5
2.1.3.1 Modelo <i>in vivo</i> de edema auricular en ratón inducido por TPA	5
2.2 Enfermedades Microbianas.....	5
2.2.1 Etiología (enfermedades infecciosas por microorganismos).....	5
2.2.2 Organismos de estudio.....	6
2.2.2.1 Género <i>Staphylococcus</i>	6
2.2.2.2 <i>Staphylococcus aureus</i> sensible.....	6
2.2.2.3 <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina	7
2.2.3 Tratamiento farmacológico.....	7
2.2.4 Resistencia antimicrobiana	7
2.2.5 Fundamento de bioensayos antimicrobianos.....	8
2.2.5.1 Bioautografía	8
2.2.5.2 Concentración Mínima Inhibitoria (MIC).....	8
2.2.5.3 Microdilución en caldo.....	9
2.3 Antecedentes de la planta a estudiar:	10
2.3.1 Clasificación taxonómica de <i>Prosopis laevigata</i>	10
2.3.2. Género <i>Prosopis</i>	11
2.3.3 <i>Prosopis laevigata</i>	17
3. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....	22
4. JUSTIFICACIÓN	22
5. HIPÓTESIS	22
6. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	22
7. OBJETIVOS.....	23

7.1 General	23
7.2 Específicos	23
8. METODOLOGÍA	24
8.1 MATERIAL Y REACTIVOS	24
8.1.1 General.....	24
8.1.2 Colecta del Material Biológico de <i>Prosopis laevigata</i>	24
8.1.3 Animales de Experimentación	24
8.1.4 Microorganismos.....	25
8.2 MÉTODOS.....	25
8.2.1 Colecta de <i>Prosopis laevigata</i>	25
8.2.2 Obtención de extractos: <i>n</i> -hexano (PIEH), diclorometano (PIED) y metanol (PIEM) de <i>Prosopis laevigata</i>	25
8.3 Fraccionamiento del extracto con mayor actividad antiinflamatoria y antimicrobiana	25
8.3.1 Fraccionamiento químico de PIED obtenido de <i>P.laevigata</i>	25
8.3.2 Proceso químico de la subfracción 1-R6	26
8.3.3 Proceso químico de la subfracción 2-R10	27
8.3.4 Proceso químico de la subfracción 2-R12y 2-R13.....	28
8.3.5 Purificación del veratrato de etilo (VE)	29
8.3.6 Modelo <i>in vivo</i> de edema auricular en ratón inducido por TPA	33
8.3.7 Bioautografía.....	33
8.3.8 Concentración mínima inhibitoria	33
8.3.9 Método de microdilución en caldo.....	34
8.3.10 Análisis estadísticos.....	34
9. RESULTADOS	35
9.1 Rendimiento de los extractos PIEH, PIED Y PIEM	35
9.2 Evaluación antiinflamatoria de extractos, fracciones y compuesto aislado.....	37
9.2.1 Actividad antiinflamatoria de extractos de PIEH, PIED y PIEM.....	37
9.2.2 Actividad antiinflamatoria de fracciones y del VE en el modelo de Edema auricular de ratón inducido por TPA	39

9.3 Evaluación antimicrobiana de los extractos PIEH, PIED y PIEM	41
9.3.1 Actividad antimicrobiana ensayados en el método de Bioautografía	41
9.3.2 Concentración Mínima Inhibitoria (MIC)	41
9.3.3 Microdilución en caldo	42
10. DISCUSIÓN	43
11. CONCLUSIÓN	46
12. REFERENCIAS	47
13. ANEXO	59

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1. Fraccionamiento químico de PIED de <i>P. laevigata</i>	26
Tabla 2. Fraccionamiento químico de la subfracción 1-R6	27
Tabla 3. Fraccionamiento químico de la subfracción 2-R10	28
Tabla 4. Fraccionamiento químico de la subfracción 2-R12 y 2-R13	29
Tabla 5. Fraccionamiento químico de la subfracción 1-R7	30
Tabla 6. Datos espectroscópicos de RMN para el veratrato de etilo (1 , 600 MHz, CDCl ₃ , δ ppm, <i>J</i> en Hz).....	37
Tabla 7. Actividad antiinflamatoria de extractos de PIEH, PIED y PIEM en un modelo de edema auricular en ratón ICR inducido por TPA.....	37
Tabla 8. Actividad antiinflamatoria de fracciones, subfracciones y VE en un modelo de edema auricular en ratón ICR inducido por TPA.....	39
Tabla 9. Polaridad de compuestos en los que la bacteria no pudo crecer	41
Tabla 10. Evaluación de la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) contra <i>S. aureus</i> sensible y resistente a meticilina.....	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Prosopis laevigata</i> (colecta 2019).....	10
Figura 2. <i>Prosopis laevigata</i> . (A) Hojas, (B) Espinas, (C) Flores, (D) Filamentos, (E) Fruto leguminoso, (F) Corteza del tronco.	17
Figura 3. Distribución geográfica de <i>P. laevigata</i> y otras especies pertenecientes al género.	19
Figura 4. Cromatografía en capa fina en fase reversa de las subfracciones de la columna 4.....	29
Figura 5. Cromatografía en capa fina en fase reversa de las fracciones 1 a 12.	31
Figura 6. Cromatografía en capa fina en fase reversa de las fracciones 12 a 22	31
Figura 7. Cromatografía en capa fina en fase reversa de las fracciones 23 a 32.	31
Figura 8. Cromatografía en capa fina en fase reversa de las fracciones 33 a 43.	32
Figura 9. Cromatografía en capa fina en fase normal de las fracciones 33 a 43.	32
Figura 10. Cromatografía en capa fina en fase normal de las fracciones 44 a 53.	32
Figura 11. Fraccionamiento químico de <i>Prosopis laevigata</i>	36
Figura 12. CCF Fase normal de la bioautografía.....	41

ÍNDICE DE GRÁFICAS

- Gráfica 1.** Efecto de la administración local del extracto PIEH, PIED y PIEM a 1 mg/oreja, sobre el edema (diferencia de peso) inducido con TPA en el pabellón auricular de ratones ICR. INDO= indometacina. Anova post-Dunnet, $p<0.05$ 38
- Gráfica 2.** Los resultados muestran que el extracto PIEH y PIEM, inhibieron el edema en 60.81% y 60.2%, mientras que el extracto PIED en un 75.9%, respectivamente a una dosis de 1 mg/oreja. Mientras que la INDO (control positivo) a 1 mg/oreja mostró un 65% de inhibición del edema. 38
- Gráfica 3.** Efecto de la administración local de 1-R3, 1-R6, 1-R7 y VE a 1 mg/oreja, sobre el edema (diferencia de peso) inducido con TPA en el pabellón auricular de ratones ICR. INDO= indometacina. Anova post-prueba Dunnett, $p<0.05$ 40
- Gráfica 4.** Los resultados muestran que el veratrato de etilo (VE) inhibió el edema en un 85.1%, 1-R3 en un 56.5%, 1-R6 en un 65.4% y 1-R7 en un 51.2% a una dosis de 1 mg/oreja. La INDO a una dosis de 1 mg/oreja presentó una inhibición del edema del 68.7%. 40

ABREVIATURAS

AA	Ácido Araquidónico
ACE	Enzima Convertidora de Angiotensina
AcOEt	Acetato de Etilo
ANOVA	Análisis de Varianza
AINEs	Antiinflamatorios No Esteroideos
CDCl ₃	Cloroformo deuterado ó cloroformo-d
CCF	Cromatografía en Capa Fina
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
CH ₃ CN	Acetonitrilo
CIBIS	Centro de Investigaciones Biomédicas de Sur
CIByC	Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación
CLSI	Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (por sus siglas en inglés Clinical and Laboratory Standards Institute)
cm	Centímetro
DEPT	Mejoramiento sin distorsiones por transferencia de polarización (por sus siglas en inglés Distortionless Enhancement by Polarization Transfer)
DMSO	Dimeltisulfóxido
EEM	Error Estándar de la Media
g	Gramos
GLASS	Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (por sus siglas en inglés Global Antimicrobial Resistance Surveillance System)
HMBC	Conectividad heteronuclear a enlaces múltiples (por sus siglas en inglés Heteronuclear Multiple Bond Connectivity)
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Resolución (por sus siglas en inglés High Performance Liquid Chromatography)
HSQC	Coherencia Heteronuclear Cuántica Simple (por sus siglas en inglés Heteronuclear Single Quantum Coherence)
Hz	Hercio
H ₂ O	Agua

H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
ICR ®	Laboratorios de Investigación Charles River (por sus siglas en inglés Investigation Charles River Laboratories). Cepa de ratón No Consanguínea obtenida de animales provenientes de Laboratorios Charles River, Massachusetts
IL-1β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina Seis
IL-18	Interleucina dieciocho
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
INDO	Indometacina
<i>J</i>	Joule
L	Litro
Kg	Kilogramo
m	Metro o metros
MBC	Concentración Mínima Bactericida (por sus siglas en inglés Minimum Bactericidal Concentration)
mg	Miligramos
MHz	Megahercio
MIC	Concentración Mínima Inhibitoria (por sus siglas en inglés Minimum Inhibitory Concentration)
ml	Mililitros
mm	Milímetros
msnm	Metros sobre el nivel del mar
nm	Nanómetro
LB	Caldo Luria Bertani
LDL	Lipoproteínas de Baja Densidad
LTB ₄	Formación de leucotrienos B cuatro
OMS	Organización Mundial de la Salud
ppm	Partes por millón
Prom.	Promedio
PRONARE	Programa Nacional de Reforestación

PIED	Extracto de Diclorometano de <i>Prosopis laevigata</i>
PIEH	Extracto de <i>n</i> -hexano de <i>Prosopis laevigata</i>
PIEM	Extracto de Metanol de <i>Prosopis laevigata</i>
PKC	Proteincinasa C
<i>P.</i>	<i>Prosopis</i>
REBIOSH	Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono Trece
RMN ¹ H ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de uno Hidrógeno y trece Carbono
<i>S.</i>	<i>Staphylococcus</i>
<i>Sa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible
<i>SaR</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina
SEMARNAT	Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca
<i>spp.</i>	Especie
TNF- α	Factor de Necrosis Tumoral alfa (por sus siglas en inglés Tumor Necrosis Factor-alpha)
TPA	12- <i>O</i> -Tetradecanoilforbol 13-acetato (Por sus siglas en inglés 12- <i>O</i> -Tetradecanoylphorbol-13-acetate)
UV	Rayos Ultravioleta
UAEM	Universidad Autónoma del Estado de Morelos
UFC	Unidades Formadoras de Colonias
VE	veratrato de etilo
* <i>p</i> <0.05	La hipótesis nula es falsa
°C	Centígrados
μ L	Microlitros
μ g	Microgramos
β -lactámicos	Betaláctamicos
δ	Delta minúscula
Δ	Delta mayúscula
Δ w control	Diferencia entre el peso de la sección del oído tratado con el

	control negativo (wt) y el peso de la sección del oído no tratado con TPA (wnt)
Δw tratamiento	Diferencia entre el peso de la sección del oído tratado con el control positivo (wt) y el peso de la sección del oído no tratado (wnt)
λ	Longitud de onda
1-R3	Subfracción tres de la columna uno aislada del extracto de diclorometano
1-R6	Subfracción seis de la columna uno aislada del extracto de diclorometano
1-R7	Subfracción siete de la columna uno aislada del extracto de diclorometano
2-R10	Subfracción diez de la columna dos aislada del extracto de diclorometano
2-R12	Subfracción doce de la columna dos aislada del extracto de diclorometano
2-R13	Subfracción trece de la columna dos aislada del extracto de diclorometano
4-R3	Subfracción tres de la columna cuatro aislada del extracto de diclorometano
5-HT	5-Hidroxitriptamina
5-R7	Subfracción siete de la columna cinco aislada del extracto de diclorometano equivalente al veratrato de etilo (Ve)

RESUMEN

A nivel mundial existen dos problemas de morbilidad de gran relevancia en el sector salud, la inflamación, que es el proceso fisiológico que, en cuadros inflamatorios agudos y crónicos, produce gradualmente la pérdida de la funcionalidad del organismo, provocando severos daños a la salud y, por otro lado, las enfermedades microbianas que son aquellas producidas por microorganismos patógenos como las bacterias. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antiinflamatoria y antimicrobiana de extractos, fracciones y de al menos un compuesto aislado de *Prosopis laevigata*. Las hojas de *P. laevigata* se maceraron para la obtención de extractos de *n*-hexano (PIEH), diclorometano (PIED) y metanol (PIEM). PIED mostró mayor inhibición de 75.9% a una dosis de 1 mg/oreja a diferencia de la indometacina (INDO) con una inhibición del 65%, en el modelo de edema de oreja de ratón inducido por 13 acetato de 12-*O*-tetradecanoilforbol (TPA), posteriormente, fue sometido a una investigación fitoquímica donde se obtuvo una fracción 1-R7 que inhibió el edema en un 51.2%. En un segundo proceso cromatográfico, fue posible aislar de 1-R7, un compuesto con anillo aromático, caracterizado como veratrato de etilo (VE) mediante resonancia magnética nuclear y HPLC, VE inhibió el edema en oreja de ratón causado por TPA en un 85.1%. Al realizar la evaluación antimicrobiana de cada extracto, se observó la presencia de compuestos con inhibición del crecimiento de la bacteria *Staphylococcus aureus* sensible. Mediante este estudio se demostró el potencial antiinflamatorio y antimicrobiano de extractos, fracciones y del compuesto aislado de *Prosopis laevigata*, por lo que esta planta podría ser útil para el tratamiento de enfermedades que involucran procesos antiinflamatorios y contra algunas bacterias.

Palabras clave: *Prosopis laevigata*, inflamación, *Staphylococcus aureus*, veratrato de etilo.

1. INTRODUCCIÓN

La inflamación es un proceso fisiológico, natural y de defensa, que se caracteriza por presentar signos de alarma como calor, rubor y edema, sin embargo, en cuadros inflamatorios agudos y crónicos, produce la pérdida de la funcionalidad, provocando severos daños a la salud (Villalba, 2014); está implicada en traumas, infecciones, cirugías, quemaduras, enfermedades reumáticas inflamatorias, en enfermedades crónicas como la esclerosis, artritis, demencia, osteoporosis y enfermedades cardiovasculares o enfermedades relacionadas con la edad, es decir, la inflamación está involucrada en diversos padecimientos clínicos, debido a esto no abarca un rango de edad específico (Chung *et al.*, 2001; Naranjo y Restrepo, 2010). Cabe mencionar que el tratamiento de la inflamación, principalmente son los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y los corticoides (Galofré, 2009; Loza, 2011), que, aunque se observa que tienen gran eficacia, pueden producir efectos adversos como: daño renal, diabetes, hipertensión, alteraciones en el aparato digestivo, entre otros (Villalba *et al.*, 2019). Por otra parte, la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2016, menciona que las infecciones por microorganismos, como las bacterias primordialmente, son uno de los problemas de salud más relevantes a nivel mundial. El género *Staphylococcus spp.*, ha mostrado resistencia a diversos antibióticos, los cuales son los principales fármacos para poder combatirlos (Secretaría de Salud, 2018). *Staphylococcus aureus* sensible (incluida la cepa resistente a meticilina), son bacterias que además de encontrarse en el medio ambiente, también forman parte de la microbiota cutánea y membranas mucosas del ser humano, por lo que son la causa más común de diversas enfermedades infecciosas, aumentando así la probabilidad de mortalidad del 64% en los pacientes (OMS, 2020). Las plantas medicinales podrían ser una alternativa eficaz, para el tratamiento de enfermedades implicadas en la inflamación y causadas por microorganismos, ya que contienen una serie de productos naturales con gran potencial farmacológico, tanto antiinflamatorio como antimicrobiano (Salinas-Sánchez *et al.*, 2009). Diversos estudios farmacológicos indican que el género *Prosopis* presenta efecto antiinflamatorio, antimicrobiano, antibacteriano, antifúngico, analgésico, antihelmíntico, antibiótico, antiemético, antioxidante, antipalúdico, antiprotozoarios, antipústulas, antiulceroso, hepatoprotector, hemolítico, anticancerígeno y antidiabético (Henciya *et al.*, 2017; Ukande *et al.*, 2019). Estudios fitoquímicos previos indicaron que *Prosopis laevigata* contiene metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, terpenoides, saponinas, cumarinas, y compuestos fenólicos (Matta *et al.*, 2017; Acosta-Salas *et al.*, 2019). Por lo cual, el objetivo del presente trabajo es evaluar la actividad

antiinflamatoria en modelos *in vivo* y la actividad antimicrobiana en modelos *in vitro* de extractos, fracciones y al menos un compuesto obtenido a partir de las hojas de *Prosopis laevigata*.

2. ANTECEDENTES

2.1 Inflamación

El organismo del ser humano posee mecanismos de defensa ante cualquier forma de agresión, ya sea, endógena o exógena (Robledo, 2008). La inflamación es un proceso fisiológico de defensa natural local que produce el sistema inmune con la finalidad de responder ante un daño causado hacia las células y tejidos del organismo, provocado por agentes perjudiciales, como las infecciones por microorganismos (bacterias), traumas, necrosis, enfermedades crónico-degenerativas y agentes químicos (Villalba, 2014). Asimismo, este mecanismo se caracteriza por presentar signos clínicos durante el proceso inflamatorio como el calor, incremento de la temperatura, como signo secundario o una vasodilatación de la zona afectada; rubor, aspecto rojizo derivado del aumento de la irrigación sanguínea; dolor, que es una manifestación producida por la estimulación de las terminaciones nerviosas; edema, que es la distensión de los tejidos provocado por el incremento de la permeabilidad vascular y la acumulación de líquido en la zona dañada; pérdida de la funcionalidad, que es el resultado de la combinación de los 4 signos antes mencionados, provocando una limitación de la zona afectada (Cañavate, 1994; Tracy, 2006).

2.1.1 Clasificación

La inflamación presenta dos fases diferenciadas por el tiempo de duración, entre las que podemos distinguir:

- Fase aguda. Es la respuesta inmediata y relativamente corta ante el agente causal, en la que se presenta edema (exudación de líquido y de proteínas plasmáticas) y la migración de leucocitos como los neutrófilos a la zona afectada (León *et al.*, 2015). Comprende mecanismos estructurales, moleculares y mediadores químicos inflamatorios como las citocinas que son liberadas por fagocitos mononucleares, linfocitos y otras células que inciden en la activación de dichos mecanismos con la finalidad de neutralizar y eliminar el agente, moderar el proceso inflamatorio y posteriormente reparar los tejidos dañados (Barreno, 2008). Las citocinas proinflamatorias [interleucinas: IL-1 β , IL-6, IL-18, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)] secretadas por monocitos activados, macrófagos o las células endoteliales (Naranjo y Restrepo, 2010; Mantovani *et al.*, 2019). Otros mediadores inflamatorios incluyen metabolitos del ácido araquidónico (AA), quimiocinas y radicales libres (Shacter y Weitzman, 2002).

- Fase crónica. Se conoce así a la inflamación persistente, con mayor duración, siendo de meses o años, los efectos varían según la causa de la lesión y la capacidad de los mediadores que libera el cuerpo para reparar y recuperar los tejidos dañados (León *et al.*, 2015). La fase crónica es provocada cuando no se elimina el agente dañino, por ejemplo, las bacterias, protozoos, hongos o parásitos que provocan infecciones resistentes ante el sistema inmunitario, permaneciendo así en el huésped un periodo de tiempo más prolongado (Pahwa y Jialal., 2018). La fase crónica se caracteriza por la destrucción tisular, inflamación activa y un intento repetitivo por reparar tejidos (Villalba, 2014).

2.1.2 Tratamiento farmacológico

En la medicina existe un sin número de fármacos para el tratamiento de diversas enfermedades, de los cuales podemos destacar los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y los corticoides para el tratamiento de la inflamación (Juthani, *et al.*, 2017).

Los AINEs son los fármacos de gran utilidad y eficacia a nivel mundial, ya que su modo de acción es rápida, son usados principalmente para el tratamiento de la artrosis, del dolor musculoesquelético leve o moderado y para el tratamiento de la inflamación crónica (Prieto, 2007). Tanto en procesos inflamatorios de fase aguda y crónica se deben de administrar los AINEs, durante el menor tiempo posible y en una dosis mínima tolerada para producir una respuesta clínica favorable, debido a que pueden provocar efectos adversos de origen gastrointestinal, cardiovascular y renal primordialmente (Loza, 2011; Villalva *et al.*, 2019).

Los corticoides son fármacos con actividad tanto antiinflamatoria, antiedematosa y como inmunosupresores (Saadoun, 2020). Sin embargo, producen efectos secundarios como la supresión de la función del eje hipofisario-suprarrenal y pueden inducir al síndrome de Cushing, por tal motivo se debe evaluar la condición del paciente, que podría contraindicar su administración (Galofré, 2009). Por otro lado, el tratamiento corticoideo produce otros efectos que se clasifican en efectos de corto plazo y largo plazo, entre los efectos de corto plazo se destaca, la diabetes, daños en el sistema gastrointestinal como hemorragia digestiva e hipertensión, mientras que la osteoporosis, arterosclerosis, obesidad, entre otros son efectos a largo plazo, producidos por el manejo y la administración incorrecta, ya que esta se debe de administrar en bajas concentraciones (Botargues y Musso, 2011).

La finalidad de los AINEs y de los corticoides es reducir el proceso inflamatorio, el cual prevalece a nivel mundial implicado en diversas enfermedades; sin embargo, su administración puede ser

perjudicial en cierto grado, ya que provoca gran variedad de efectos adversos (Tacuri-Sumba, 2021).

2.1.3. Fundamento del modelo de inflamación auricular

2.1.3.1 Modelo *in vivo* de edema auricular en ratón inducido por TPA

El 13-acetato de 12-*O*-tetradecanoilforbol (TPA) es un éster de forbol extraído del aceite de *Croton tiglium L.* (Hecker *et al.*, 1967). Posee propiedades pro-inflamatorias, irritantes y promotoras de tumores (Estrada *et al.*, 2011). Este modelo de inflamación es utilizado para estudiar el mecanismo e inhibición de la inflamación en el cual el TPA activa la proteincinasa C (PKC), importante en la transducción de señales activadoras de proliferación celular y de prostanoïdes, liberación de ácido araquidónico (AA), aumento de radicales libres y la síntesis de proteínas proinflamatorias; consiste en aplicar mediante una pipeta automática en el pabellón auricular una solución de TPA disuelto en 20 µL de acetona a una dosis de 2.5 µg/oreja en la superficie interna y externa, durante 6 horas aproximadamente, tiempo en el que se produce un edema agudo con infiltración leucocitaria, eritema, vasodilatación y aumento del grosor producto de la extravasación de líquido, posteriormente se aplica el extracto diluido en acetona tópicamente y se evalúa obteniendo el peso de la biopsia del tejido, una vez sacrificado cada espécimen (Payá *et al.*, 1993; De Young *et al.*, 1989; Yueqin, 2006; Franco *et al.*, 2007; Salinas-Sánchez *et al.*, 2012; Cheng *et al.*, 2020).

2.2 Enfermedades Microbianas

2.2.1 Etiología (enfermedades infecciosas por microorganismos)

Las enfermedades microbianas son las principales causas de muerte del ser humano, estas son producidas principalmente por microorganismos patógenos como las bacterias, virus y hongos, las cuales pueden ser transmitidas directa o indirectamente de una persona a otra (Serra, 2017). Según la OMS en el año 2017, los microorganismos de mayor interés que causan enfermedades infecciosas en el ser humano, son las bacterias (adquiridas en el medio extrahospitalario), *Escherichia coli* (causante de diarrea hemorrágica), *Mycobacterium tuberculosis* (causante de la tuberculosis), *Neisseria gonorrhoeae* (causante de la gonorrea), *Salmonella typhi* (causante de fiebre tifoidea), *Staphylococcus aureus*, incluidas las cepas resistentes a la meticilina adquiridas en el medio extrahospitalario (causa infecciones de piel y a veces neumonía, endocarditis y osteomielitis) y *Streptococcus pneumoniae* (causante de neumonía); las bacterias (adquiridas en el medio hospitalario) como *Acinetobacter baumannii* (produce infecciones en los pulmones, en el

sistema circulatorio, cerebro, tracto urinario y en heridas), *Enterococcus faecium* y *Enterococcus faecalis*, incluidas las cepas resistentes a la vancomicina, patógenos entéricos multirresistentes, entre ellos *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* (causante de neumonía), *Staphylococcus aureus*, incluidas las cepas resistentes a la meticilina y *Stenotrophomonas maltophilia*; hongos como *Candida albicans* (produce candidiasis).

2.2.2 Organismos de estudio

2.2.2.1 Género *Staphylococcus*

El género *Staphylococcus* contiene más de 30 especies diferentes, el nombre proviene del griego *staphyle* (racimo de uvas), fue designado por Sir Alexander Ogston para describir las características de crecimiento en grupos semejantes a uvas, se caracterizan por ser cocos Gram positivos, no móviles, aerobios facultativos y fermentadores de glucosa, habitan en la piel y las membranas mucosas, sin embargo, diversas especies como *Staphylococcus aureus* son causantes de diversas enfermedades humanas (Velázquez-Meza, 2005; Pasachova et al., 2019).

2.2.2.2 *Staphylococcus aureus* sensible

Es una bacteria Gram-positiva facultativamente anaeróbica, que mide entre 0.5 y 1.5 micras de diámetro (Cervantes-García et al., 2014; Foster y Geoghegan, 2015). En el sector salud es considerado como un microorganismo patógeno oportunista y nosocomial de gran importancia causante de una amplia gama de infecciones humanas, incluyendo enfermedades transmitidas por alimentos, infecciones de piel o tejidos blandos, infecciones pulmonares, infecciones del tracto urinario, articulaciones y huesos; como bacteriemia, endocarditis infecciosa, foliculitis, forúnculos, celulitis, osteomielitis, artritis séptica, neumonía, empiema, gastroenteritis y meningitis (Tong et al., 2015; Buchan et al., 2019). *Staphylococcus aureus* se encuentra diseminada en el medio ambiente y forma parte de la microbiota de la piel y mucosas, se estima que el 15% de la población aloja *Staphylococcus aureus* en las fosas nasales, mientras que otras poblaciones, como el personal de salud, pacientes hospitalizados e inmunocomprometidos poseen una tasa de colonización del 80% (Taylor y Unakal, 2019). Este microorganismo posee características estructurales, enzimáticas y producción de toxinas particulares, que le proporcionan un alto grado de virulencia, patogenicidad y resistencia contra los antimicrobianos, como los antibióticos (Bustos-Martínez et al., 2006; Zendejas-Manzo et al., 2014). Por ejemplo, la penicilina, vancomicina, meticilina, nafcilina, oxacilina, cefalosporinas, entre otros, son fármacos

que se utilizan para combatir enfermedades microbianas infecciosas; sin embargo, la resistencia a estos antimicrobianos producida por esta bacteria es un problema relevante en el área de la salud (Taylor y Unakal, 2019).

2.2.2.3 *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

La meticilina es un derivado semisintético de la penicilina, esta droga fue introducida y ampliamente utilizada en Europa en la década de los 60, sin embargo, debido a su toxicidad, actualmente ya no se comercializa para uso humano y se ha reemplazado por penicilinas similares, como oxacilina, flucloxacilina y dicloxacilina (Aguayo-Reyes *et al.*, 2018; Turner *et al.*, 2019). Desde su introducción a la práctica clínica se han reportado cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes en todo el mundo, ya que a diferencia de *Staphylococcus aureus* sensible, estas cepas codifican cromosomas del casete estafilocócico que les proporcionan resistencia a meticilina y todos los antibióticos β -lactámicos clínicamente disponibles (Velázquez-Meza, 2005; Foster y Geoghegan, 2015; Lee *et al.*, 2018).

2.2.3 Tratamiento farmacológico

Un antimicrobiano es una molécula natural (producida por un organismo vivo, hongo o bacteria), sintética o semisintética, que impide el crecimiento o produce la muerte de bacterias, virus u hongos (Chandra y Kumar, 2017). Los antibióticos constituyen un subgrupo heterogéneo de antimicrobianos con propiedad antibacteriana, con la finalidad de ser bactericidas (produce lisis bacteriana) o bacteriostáticos (impiden el desarrollo y multiplicación bacteriana), estos fármacos pueden ser aplicados vía intravenosa, intramuscular o por vía oral; sin embargo, su uso debe ser controlado, puesto que produce efectos adversos (Seija y Vignoli, 2006). Los antibióticos utilizados para el tratamiento de las enfermedades producidas por bacterias son β -lactámicos como las penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos, carbapenemes, glucopéptidos, aminoglucósidos y quinolonas (Suárez y Gudíol, 2009).

2.2.4 Resistencia antimicrobiana

Los microorganismos están desarrollando diversos mecanismos de manera natural para resistir a los fármacos que se usan para combatirlos, debido al abuso y uso incorrecto de los antimicrobianos, como los antibacterianos, lo que ocasiona un problema grave de salud pública, puesto que los actuales tratamientos ante estas enfermedades infecciosas ya no están siendo efectivos (Monroe y

Polk, 2000; Muratani y Matsumoto, 2004; Pérez-Cano, 2013; Arias-Flores *et al.*, 2016; Secretaría de Salud, 2018).

La OMS en el 2018 menciona que el Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (GLASS), ha revelado la presencia de resistencia a los antibióticos en muestras de 500 000 personas de 22 países en las que se sospechaban infecciones bacterianas.

La OMS en el 2017 publicó una lista que incluye 12 familias de bacterias más peligrosas para la salud humana, especialmente por la amenaza que suponen las bacterias siendo resistentes ante múltiples antibióticos: Los de Prioridad 1 o crítica como *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacteriaceae* resistentes a los carbapenémicos ; Prioridad 2 o elevada como *Enterococcus faecium* (resistente a la vancomicina), *Staphylococcus aureus* (resistente a la meticilina, con sensibilidad intermedia y resistencia a la vancomicina), *Helicobacter pylori* (resistente a la claritromicina), *Campylobacter spp.* (resistente a las fluoroquinolonas), *Salmonella* (resistentes a las fluoroquinolonas), *Neisseria gonorrhoeae* (resistente a la cefalosporina, resistente a las fluoroquinolonas); Prioridad 3 o media como *Streptococcus pneumoniae* (sin sensibilidad a la penicilina), *Haemophilus influenzae* (resistente a la ampicilina) y *Shigella spp.* (resistente a las fluoroquinolonas).

2.2.5 Fundamento de bioensayos antimicrobianos

2.2.5.1 Bioautografía

Método utilizado para la purificación de sustancias antibacterianas o antifúngicas; en la que el extracto a evaluar, se coloca sobre una placa de cromatografía en capa fina (CCF), eluida en una mezcla apropiada de disolventes, permitiendo la separación y localización de los diferentes componentes del extracto con actividad antimicrobiana (Ncube *et al.*, 2008; Ramirez y Castaño, 2009; Sánchez-García *et al.*, 2016).

2.2.5.2 Concentración Mínima Inhibitoria (MIC)

Método *in vitro* que se ensaya en agar para determinar la concentración más baja en µg/mL de un antibiótico que inhibe el crecimiento de una determinada cepa bacteriana, eficaz para un tratamiento exitoso de las enfermedades infecciosas producidas por ese microorganismo (Kowalska-Krochmal y Dudek-Wicher, 2021; Ramirez y Castaño, 2009). La interpretación de sensibilidad de este método fue establecida por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) como: Sensible, crecimiento inhibido del microorganismo en una concentración sérica

alcanzable del fármaco, utilizando la dosis habitual; intermedia, crecimiento del microorganismo inhibido a una dosis máxima recomendada y resistente, el microorganismo es resistente a los niveles séricos del fármaco que se alcanzan normalmente (IDEEEX, 2018).

2.2.5.3 Microdilución en caldo

Es un método *in vitro* de susceptibilidad microbiana utilizado para determinar la concentración mínima bactericida MBC (concentración más baja que previene el crecimiento de un organismo o lo inhibe en su totalidad después de subcultivar en un medio libre de extracto vegetal o antimicrobiano) y la concentración mínima inhibitoria MIC (concentración más baja de extracto o antimicrobiano que inhibe el crecimiento del microorganismo después de incubar) del microorganismo en estudio, en esta técnica son utilizadas microplacas en presencia de diferentes concentraciones crecientes de extracto vegetal con actividad antimicrobiana o un antimicrobiano, diluidos en el medio de cultivo (caldo o agar), el microorganismo se inocula y se encuba en las diferentes microplacas durante 24 horas para así determinar la MIC, posteriormente se subcultiva el microorganismo en un medio de cultivo (caldo o agar) libre de compuesto antimicrobiano y se evalúa la concentración mínima bactericida (Cantón *et al.*, 2000; Taroco, Seija y Vignoli, 2006; Alvarado *et al.*, 2018).

2.3 Antecedentes de la planta a estudiar:

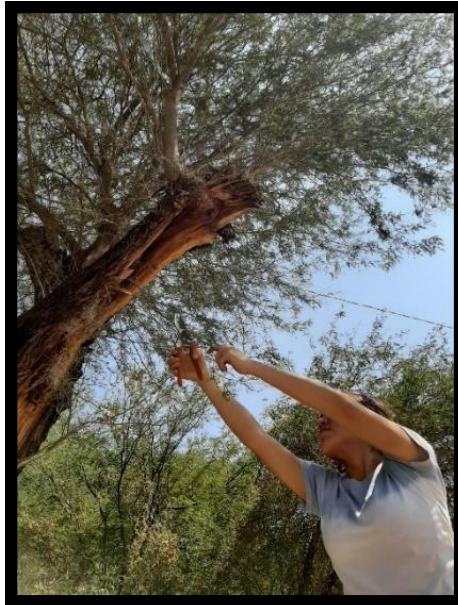


Figura 1. *Prosopis laevigata* (colecta 2019)

2.3.1 Clasificación taxonómica de *Prosopis laevigata*

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

División: Fanerógama Magnoliophyta

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Subfamilia: Mimosoideae

Tribu: Mimoseae

Género: *Prosopis*

Especie: *P. laevigata* (Humb. Y

Bonpl.Ex Willd.)M.C.Johnst.

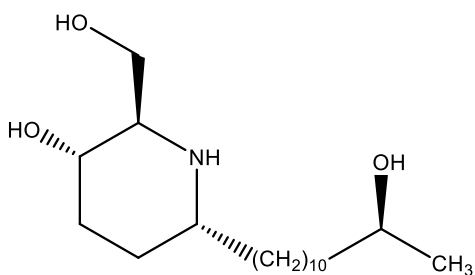
2.3.2. Género *Prosopis*

El género *Prosopis* pertenece a la familia Fabaceae (subfamilia: Mimosoideae), posee una amplia distribución en zonas áridas y semiáridas del mundo, comprende 44 especies, de las cuales 40 son nativos de América del Norte y del Sur, tres especies en Asia, y una especie de África, en las Américas se han registrado 28 especies de este género, trece de estas especies son endémicas (Passera, 2000).

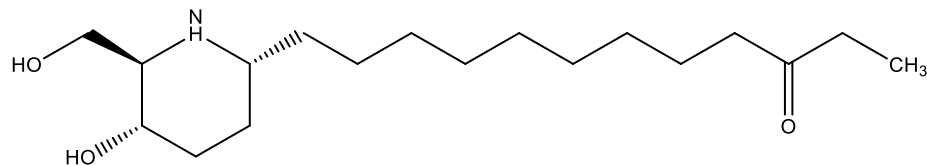
En la medicina tradicional las especies del género *Prosopis* se aplican con fines anticancerígenos, antidiabéticos, antiinflamatorios, antimicrobianos, tratamiento de bronquitis, leucoderma, temblores, asma, reumatismo, lepra, disentería, infecciones oculares, mordeduras de serpientes, picaduras de escorpiones, dolencias, infecciones de boca y garganta, úlceras; parasitosis, enfermedades urinarias, dermatitis y para la prevención de abortos espontáneos; el género posee compuestos como flavonoides, taninos, terpenos, alcaloides, quinonas o fenólicos con potencial antiinflamatorio, antimicrobiano, antibacteriano, antifúngico, analgésico, antihelmíntico, antibiótico, antiemético, antioxidante, antipalúdico, antiprotozoario, antipústulas, antiulceroso, hepatoprotector, hemolítico, anticancerígeno y antidiabético (Henciya *et al.*, 2017; Prabha *et al.*, 2014; Ukande *et al.*, 2019).

Dos compuestos fueron aislados de *Prosopis spp.*, la prosopina (**1**) que se usa como un estimulante débil para el sistema nervioso, mientras que la prosopinina (**2**) tiene algunos efectos anestésicos tres veces más fuertes que la cocaína (Ramírez-Arteaga *et al.*, 2013; Matta *et al.*, 2017; Cushnie y Lamb, 2005).

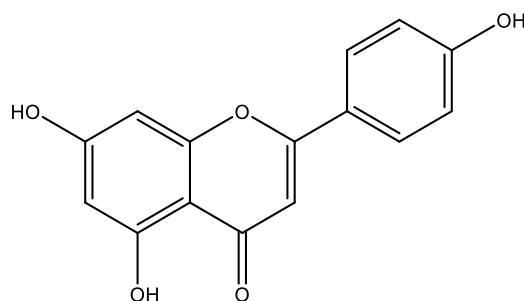
Prosopis spp. posee apigenina (**3**) y quercetina (**4**) dos compuestos que presentan actividad tanto antiinflamatoria y antibacterial (Prabha *et al.*, 2014; Cushnie y Lamb, 2005).



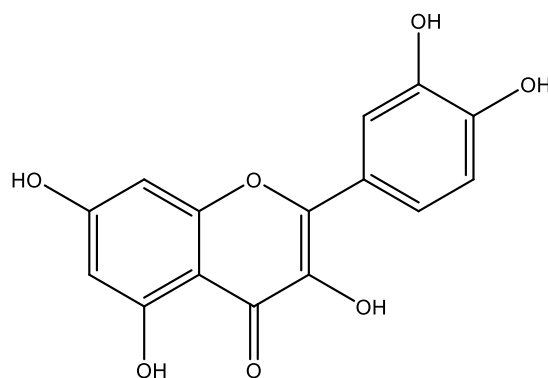
(1) Prosopina.



(2) Prosopina.



(3) Apigenina



(4) Quercetina

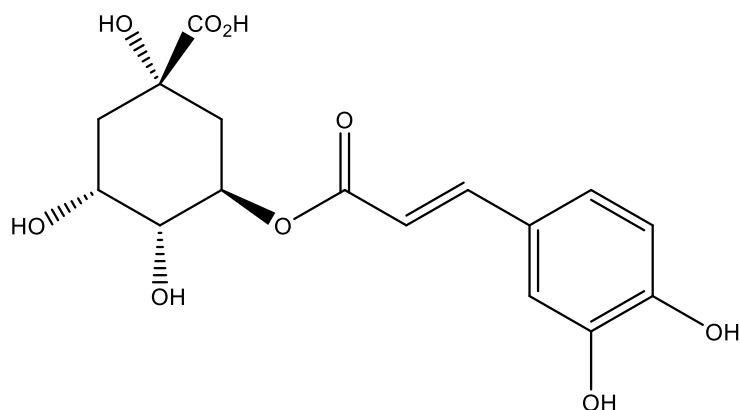
La parte soluble del extracto metanólico de la corteza de *Prosopis spicigera* inhibió significativamente la respuesta inflamatoria en el modelo de inflamación en pata de ratón inducida con carragenina, formaldehído, 5-HT y aceite de croton, esta propiedad puede ser atribuida a que este extracto contiene esteroides y azúcares reductores (Madan *et al.*, 1972).

Los extractos de diclorometano de semillas de *Prosopis alpataco* mostraron actividad antiinflamatoria, antibacteriana y antifúngica contra *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas stutzeri*, se determinó que un grupo de triterpenos pentacíclicos son los responsables de la actividad; el extracto metanólico de semillas de *P. denudans* var. *denudans* y el extracto acuoso de semillas de *P. denudans* var. *patagónica* mostró actividad antifúngica (Mazzuca *et al.*, 2003).

Un extracto metanólico de la corteza del tallo de *Prosopis africana* (a dosis de 62.5, 125 y 250 mg/ kg) se ensayó en el modelo de inflamación en ratón inducida por carragenina, en el que mostró una actividad antiinflamatoria significativa (Ayanwuyi *et al.*, 2010).

Agrawal, Garg y Singhen en el año 2013 evaluaron el extracto etanólico de semillas de *Prosopis spicigera* en el modelo de edema de la pata de ratón inducido por carragenina, en el cual los resultados mostraron que hubo inhibición de la inflamación significativamente.

Una fracción del extracto de butanol de *Prosopis cineraria* tiene importantes actividades antiinflamatorias, anticolagenasa y antielastasa, esto debido a la presencia de un abundante compuesto, el ácido clorogénico (5) junto con otros compuestos fenólicos (Yadav *et al.*, 2018).



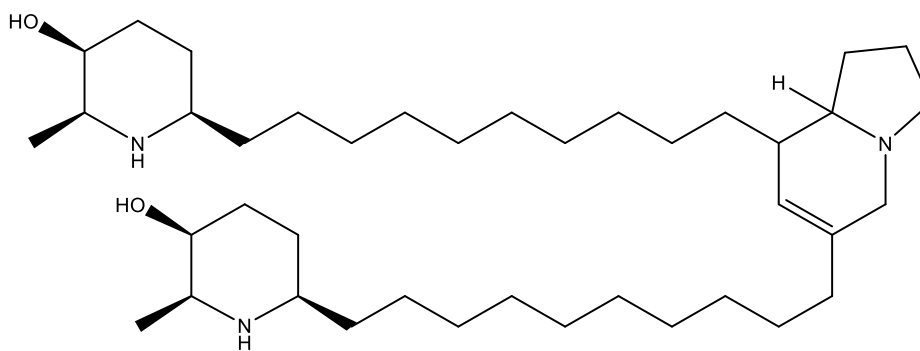
(5) Ácido clorogénico

Diferentes partes de *Prosopis juliflora* contienen alcaloides, taninos, fenoles, flavonoides, terpenos, saponinas y esteroides (Ukande *et al.*, 2019). Extractos metanólicos de la corteza de *Prosopis juliflora* fueron evaluados en el modelo agudo de edema de pata de ratón inducido por carragenina e histamina en el que 400 mg/kg mostró una inhibición máxima del 55.32%, mientras que el diclofenaco estándar lo inhibió en un 61.33%; sin embargo, en el modelo crónico mediante la formación de tejidos de granulación por bolitas de algodón, se exhibió una actividad antiinflamatoria significativa (SivaKumar *et al.*, 2009).

Extracto metanólico de la corteza mostró actividad antibacteriana por método de difusión en disco contra especies de *Pseudomonas*, *Klebsiella pneumoniae* MTCC 4032, *Proteus mirabilis* NCIM 2813, *Escherichia coli* NCIM 2641, *Shigella* MTCC 1457, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* MTCC 1144, *Proteus mirabilis* NCIM 2813 y *Salmonella paratyphi* B (Vedak y Raut, 2014).

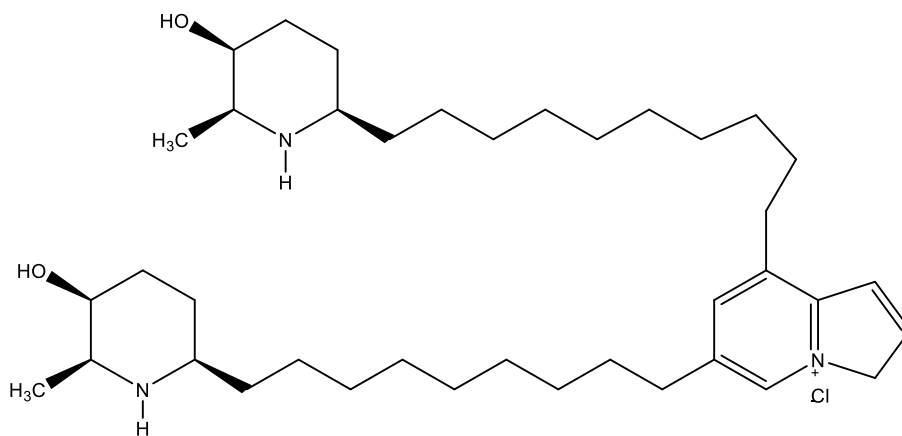
El extracto etanólico de hojas mostró una buena actividad inhibidora del crecimiento bacteriano contra cinco bacterias Gram positivas: *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.* y *Bacillus subtilis*, y cinco bacterias Gram negativas: *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp.*, empleando el método de difusión en disco de agar evaluadas a concentraciones de 50 mg/mL, 100 mg/mL, 200 mg/mL y 300 mg/mL del extracto (Sathiya y Muthuchelian, 2008). El extracto de semillas se evaluó en el método de microdilución en caldo exhibiendo actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 14990) a concentraciones de 0.312 mg/mL y 0.078 mg/mL del extracto y a 1.25 mg/mL contra *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) y *Escherichia coli* (ATCC 25922), respectivamente (Tajbakhsh *et al.*, 2015).

Ahmad y colaboradores en 1978 aislaron tres alcaloides de *Prosopis juliflora* que poseen actividad antimicrobiana, la julifloricina, julifloridina y la juliflorina (6). Los cuales poseen gran eficacia contra algunas bacterias patógenas humanas, como *Corynebacterium diphtheriae var. mitis*, *Corynebacterium hofmanni*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* e incluso contra *Streptococcus faecalis*, que son resistentes a la mayoría de los antibióticos.

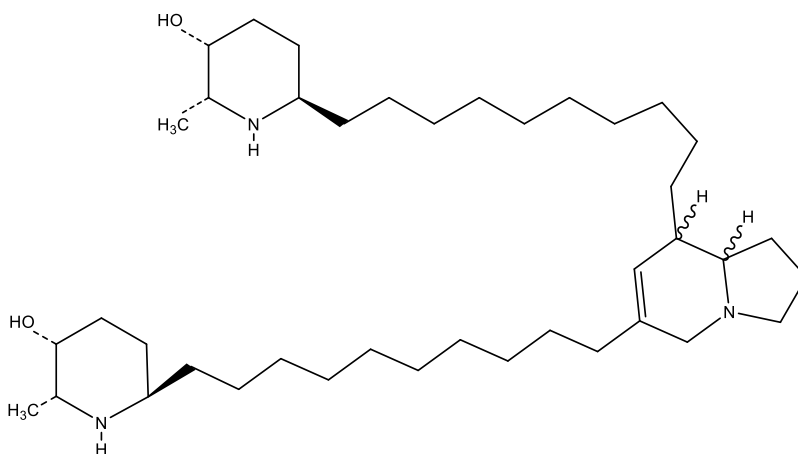


(6) Juliflorina.

Ahmad y colaboradores en 1989 aislaron dos nuevos alcaloides a partir de *Prosopis juliflora*, la juliprosinena (7) y la juliflorinina (8), este último presenta actividad antibacteriana contra cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Shigella sonnei*.

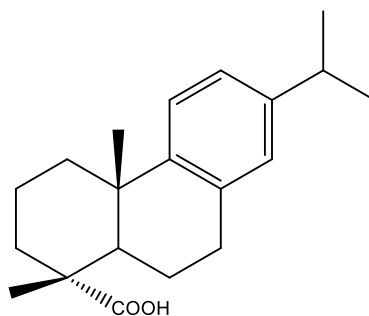


(7) Juliprosinena

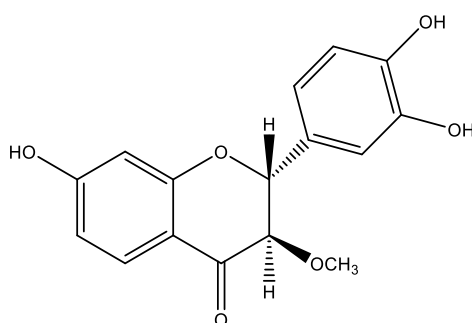


(8) Juliflorinina.

Elmezughi y colaboradores en el año 2013 aislaron por primera vez de *Prosopis africana* dos compuestos del extracto de acetato de etilo de la corteza del tallo, identificado como ácido deshidroabiético (9) y 7', 3', 4'-trihidroxi-3-metoxiflavanona (10), los cuales poseen actividad antibacteriana, evaluado en el método de microdilución en caldo contra *Mycobacterium aurum* y *Staphylococcus aureus*.



(9) Ácido dehidroabiético

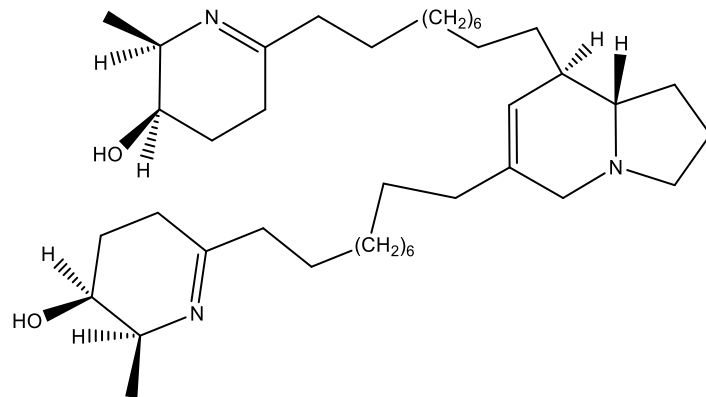


(10) 7',3',4'-trihidroxi-3-metoxiflavanona

Un estudio realizado por Corzo y colaboradores en el 2009, indica que el extracto etanólico de las hojas de *Prosopis alba* inhibe el crecimiento de las cepas *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas corrugata* y *Agrobacterium tumefaciens* en el método de concentración mínima inhibitoria.

Los extractos metanólicos de raíces, hojas, vainas y semillas de *Prosopis farcta* poseen actividad antibacterial contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, mediante el método de difusión en disco (Sharifi-Rad *et al.*, 2014).

De las hojas de *Prosopis glandulosa var. glandulosa* se aislaron 7 alcaloides de indolizidina, compuestos identificados como Δ 1,6-juliprosopina (11), prosopilosidina, prosopilosina, isoprosopilosina, isoprosopilosidina, la juliprosopina y juliprosina, compuestos que presentan actividad antimicrobiana (Rahman *et al.*, en el 2011).



(11) Δ 1,6-juliprosopina.

2.3.3 *Prosopis laevigata*

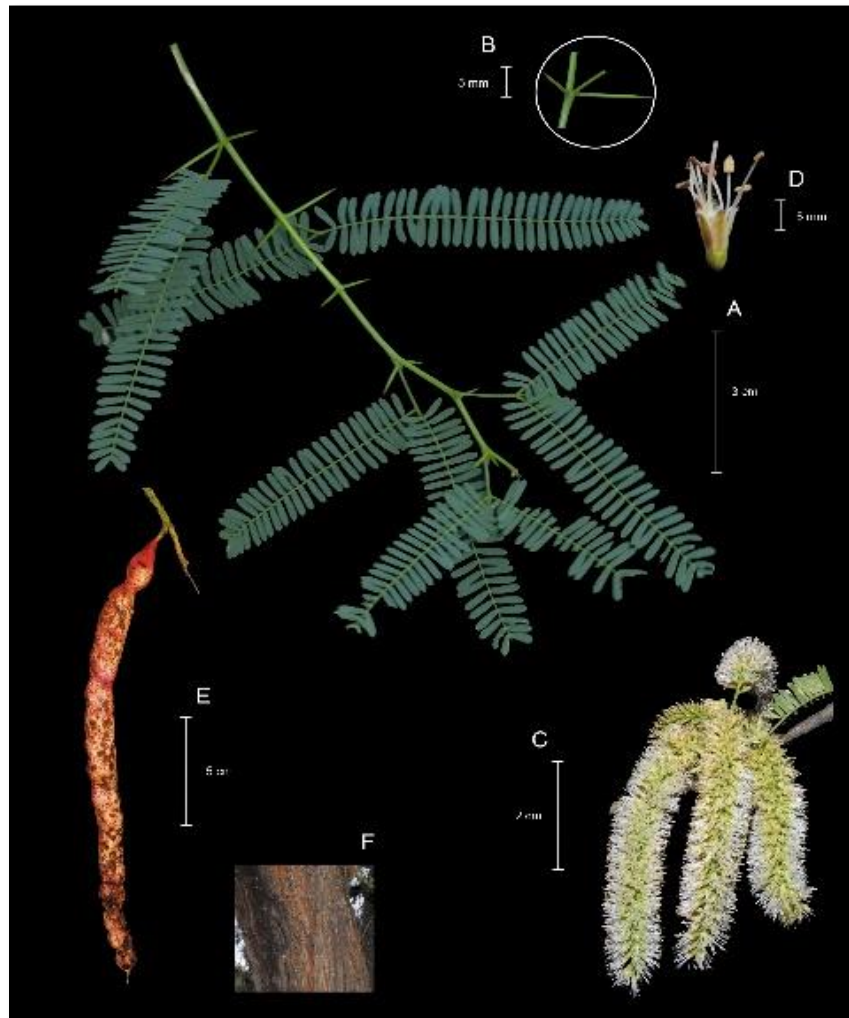


Figura 2. *Prosopis laevigata*. (A) Hojas, (B) Espinas, (C) Flores, (D) Filamentos, (E) Fruto leguminoso, (F) Corteza del tronco.

Créditos de la imagen: Ó. Dorado y G. Cuevas, 2021

Prosopis laevigata, comúnmente conocido como mezquite, es un árbol que llega a medir de 12 a 13 m de altura; su tronco mide de 30 cm hasta un 1 metro de diámetro; su corteza es gruesa, café-negrusco, fisurada; copa ancha; ramas glabras o pilosas, armadas de espinas estipulares de 1 a 4 cm de largo; sus hojas son pecioladas con 1 a 3 pares de pinnas, cada una con 10 a 20 pares de folíolos sésiles; flores dispuestas en espigas densas de 5 a 10 cm de largo; flores color blanco-amarillentas; el fruto es una legumbre linear, algo falcada, de 7 a 20 cm de largo por 8 a 15 mm de ancho, de color café-amarillento, a veces rojizo; semillas oblongas, comprimidas de 8 a 10 mm de largo, de color blanco-amarillento; se localiza desde el nivel del mar hasta los 2,050 msnm, en zonas desérticas y semidesérticas, con temperaturas medias que oscilan entre 20 a 29 °C, climas áridos y semiáridos forma parte de la vegetación de árboles poco densos y arbustos (mezquiales), en zonas con precipitaciones entre 350 y 1 200 mm anuales, crece en suelos profundos aptos para la agricultura, en llanuras y bajíos, lo que ha originado su desplazamiento (PRONARE, 1999; Saucedá *et al.*, 2014) (**Figura 1 y 2**).

En México *Prosopis laevigata* se distribuye en la vertiente del pacífico, desde Michoacán hasta Oaxaca, en la del Golfo en Nuevo León, Tamaulipas y el norte de Veracruz, en la depresión central de Chiapas, en San Luis Potosí, Guanajuato, Zacatecas, Durango, Coahuila; también se han reportado poblaciones en Hidalgo y en las regiones altas centrales del país hasta los 2,300 m. (López-Franco *et al.*, 2006; PRONARE, 1999). También se encuentra en la Zona Sur del Estado de Morelos en la Reserva de la Biosfera de la Sierra de Huautla (REBIOSH) (Dorado *et al.*, 2005; Palacios, 2006) (**Figura 3**).



● *P. odorata*; ■ *P. glandulosa*; ▲ *P. laevigata*; ▲ *P. velutina*; * *P. articulata*.

Figura 3. Distribución geográfica de *P. laevigata* y otras especies pertenecientes al género.

Fuente: Palacios, 2006

En la medicina tradicional se usa para tratar enfermedades oculares y varios trastornos gastrointestinales como la gastritis e indigestión, conjuntivitis, erupción cutánea, tos, fiebre, dolor de muelas, faringitis, ronquidos, se usa para la curación de heridas y disentería, como antiséptico, emético, purgante, antidiarreico y emoliente (Almanza y Moya, 1986; Hernández *et al.*, 2003; Hernández *et al.*, 2005).

Prosopis laevigata ha revelado propiedades medicinales atribuidas a los alcaloides, flavonoides, terpenoides, saponinas, cumarinas y compuestos fenólicos distribuidos en las partes leñosas de la planta, así como en hojas y vainas. (Gopinath *et al.*, 2013; Matta *et al.*, 2017; Acosta-Salas *et al.*, 2019).

Un estudio realizado sobre la harina de pinole a base de vainas de *Prosopis laevigata* demostró la actividad antioxidante, por inhibición de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) e inhibición de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ACE) (Gallegos-Infante *et al.*, 2013).

Extractos de acetona y fracciones purificadas de las hojas de *Prosopis laevigata* poseen potencial cardioprotector y efectos antihipertensivos que inhiben la enzima convertidora de angiotensina y la oxidación de lipoproteínas de baja densidad, dichas propiedades pueden ser atribuidas a

compuestos fenólicos como ácido gálico, catequina, galocatequina, galato de epicatequina, rutina y luteolina presentes en los extractos y fracciones (García-Andrade *et al.*, 2013).

Extractos metanólicos de *Prosopis laevigata* han presentado actividad antibacterial, teniendo efecto contra la cepa de *Staphylococcus aureus* e inhibición contra *Klebsiella pneumoniae* y *Enterococcus faecalis*; extractos hexánicos, acetónicos y metanólicos de hojas y tallos mostraron actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*, así mismo, el extracto metanólico de *P. laevigata* mostró actividad contra la formación específica de biopelículas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (Salinas-Sánchez *et al.*, 2009; Hernández, 2015; Sánchez *et al.*, 2016).

Se evaluó la actividad citotóxica de extracto etanólico de *P. laevigata* en una línea celular de macrófagos de monocitos leucémicos de ratón y actividad antioxidante por la capacidad de eliminación de óxido nítrico (Iloki-Assanga *et al.*, 2013).

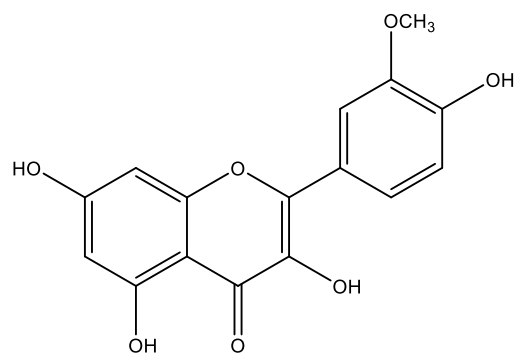
Extractos acuosos activos de hojas y tallos de *P. laevigata* presentan actividad antileishmanial *in vitro* contra promastigotes de *Leishmania amazonensis* (Delgado-Altamirano *et al.*, 2017).

Extracto de *n*-hexano de hojas de *P. laevigata* poseen efecto antihelmíntico frente a las etapas endoparasitarias de *Haemonchus contortus* (De Jesús-Gabino *et al.*, 2010).

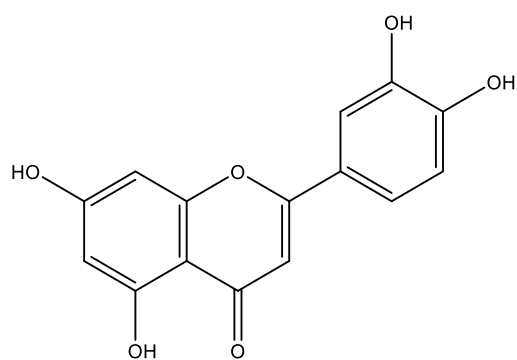
Acosta- Salas y colaboradores en el 2019 aislaron biopéptidos de la semilla de la vaina, los cuales mostraron actividad inhibitoria *in vitro* contra la bacteria patógena *Bacillus cereus*, sin embargo, contra *Staphylococcus aureus* no se demostró actividad antimicrobiana.

Prosopis laevigata posee dos alcaloides, la prosopina (1) y la prosopinina (2) anteriormente mencionados (Ramírez-Arteaga *et al.*, 2013; Cushnie y Lamb, 2005; Matta *et al.*, 2017).

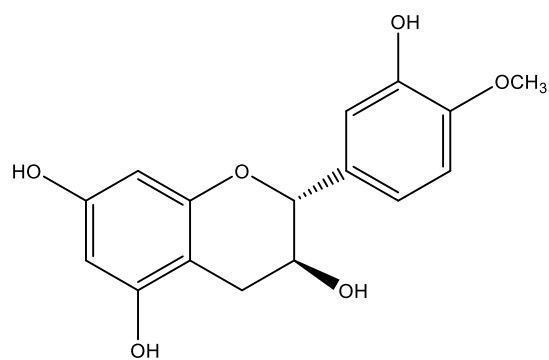
Delgado-Núñez y colaboradores en el año 2020 asilaron tres compuestos activos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *P. laevigata* con actividad antihelmíntica contra huevos y larvas infecciosas de *Haemonchus contortus*; la isorhamnetina (12) que mostró una mortalidad del 100% en larvas a una dosis de 15 y 7.5 mg/mL, sin embargo este efecto disminuyó en un 68.15% a una dosis de 2.5 mg/mL, incluso este compuesto evaluado a diferentes concentraciones más bajas tuvo efecto ovicida, los otros dos compuestos identificados como luteolina (13) y 4'-*O*-metilcatequina (14) fueron evaluados a una dosis de 2.5 mg/mL y no presentaron actividad antihelmíntica.



(12) Isoramnetina



(13) Luteolina



(14) 4'-*O*-metilcatequina

3. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La inflamación está implicada en enfermedades crónico-degenerativas y en procesos infecciosos por bacterias, que causan altos niveles de mortalidad y morbilidad en el mundo, los fármacos utilizados hoy en día generan efectos secundarios tóxicos para el organismo. Por otro lado, la resistencia de los microorganismos ante los antibióticos (bacterias) es un fenómeno natural, que provoca un mayor número de infecciones, este hecho amenaza la salud mundial, la seguridad alimentaria y el desarrollo de los países con economías pobres. Por lo tanto, en este proyecto de investigación se buscó determinar que los extractos, fracciones y al menos un compuesto de *Prosopis laevigata* presentasen efecto biológico, tanto antiinflamatorio y/o antimicrobiano en modelos *in vivo e in vitro*.

4. JUSTIFICACIÓN

Los medicamentos de primera línea que se utilizan como drogas antiinflamatorias son los no esteroidales y corticoides, compuestos que generan problemas secundarios nocivos en el paciente (Salinas-Sánchez *et al.*, 2012). Por otro lado, el incremento cosmopolita de infecciones bacterianas se debe a la creciente resistencia ante los fármacos sintéticos (OMS, 2016). Ante este panorama, se ha hecho indispensable la búsqueda de biomoléculas con actividad antiinflamatoria y antimicrobiana, necesaria para el desarrollo de nuevos fitomedicamentos. El género *Prosopis* ha demostrado contar con estudios farmacológicos antiinflamatorios y contra bacterias, de tal forma que, en esta investigación se evaluó el potencial farmacológico a nivel extracto, fracciones y al menos un compuesto aislado de *Prosopis laevigata*, en modelos de actividad antiinflamatoria y antimicrobiana.

5. HIPÓTESIS

Especies del género *Prosopis* han demostrado tener efectos antiinflamatorios y bactericidas contra diversos microorganismos, por lo tanto, *Prosopis laevigata* presentará alguno de estos efectos biológicos en modelos *in vivo e in vitro*, siendo así alguno de los metabolitos secundarios el responsable de dicha actividad.

6. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Extractos de las hojas de *Prosopis laevigata* presentarán actividad biológica en modelos *in vivo e in vitro* de actividad antiinflamatoria y antimicrobiana?

7. OBJETIVOS

7.1 General

Evaluar la actividad antiinflamatoria y antimicrobiana de los extractos de *n*-hexano (PIEH), diclorometano (PIED) y metanol (PIEM), así como las fracciones y al menos un compuesto aislado de *Prosopis laevigata*.

7.2 Específicos

- Obtener tres extractos orgánicos de polaridad ascendente de la especie vegetal *Prosopis laevigata*.
- Evaluar la actividad antiinflamatoria de los extractos obtenidos mediante el modelo *in vivo* de edema de oreja de ratón con 13 acetato de 12-*O*-Tetradecanoilforbol (TPA).
- Evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos obtenidos en cepas de *Staphylococcus aureus* sensible y multirresistente a meticilina mediante el método de microdilución en caldo y bioautografía.
- Determinar concentraciones mínimas inhibitorias de los extractos activos.
- Fraccionar por cromatografía el extracto con mayor actividad biológica.
- Evaluar las fracciones en los dos modelos biológicos.
- Aislar los metabolitos secundarios presentes mediante técnicas cromatográficas.
- Evaluar la actividad antiinflamatoria y antimicrobiana de al menos un compuesto aislado.
- Caracterizar el o los metabolitos secundarios presentes mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

8. METODOLOGÍA

8.1 MATERIAL Y REACTIVOS

8.1.1 General

Se utilizaron los reactivos 13-acetato de 12-*O*-tetradecanoilforbol (TPA) e indometacina (INDO), así como los disolventes *n*-hexano, diclorometano y metanol que fueron utilizados para obtener los extractos. Los extractos orgánicos íntegros y las sub-fracciones fueron separadas y analizadas mediante las diferentes técnicas cromatográficas. Se empleó cromatografía en columna, en la que su fase estacionaria estuvo constituida con gel de sílice 60 y/o gel de sílice de fase reversa. Las placas cromatográficas en capa fina (CCF) son de la misma naturaleza (sílice) y para su revelado se utilizó 2 amino etil difenil borinato (prueba para detección de flavonoides) y 4-hidroxibenzaldehído (prueba para detección de terpenos). Para la determinación estructural de al menos un compuesto aislado, se utilizaron equipos como Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) y Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

8.1.2 Colecta del Material Biológico de *Prosopis laevigata*

Las hojas de la planta fueron colectadas en diciembre del 2019 en Ricardo Soto 1, las Calaveras, Higuierón, Mor., México. Una muestra fue depositada en el Herbario de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM) para su identificación por el curador M. en C Gabriel Flores, botánico e investigador del Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIByC), No. de herbario: 39811 (Anexo 1).

8.1.3 Animales de Experimentación

Se usaron ratones machos de la cepa ICR ® con un peso de 25-30 g; los cuales fueron proporcionados por el Centro de Investigación Biomédica del Sur (CIBIS-IMSS). Los experimentos se realizaron de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana: NOM-062-ZOO-1999, Lineamientos (Especificaciones técnicas para la producción cuidado y uso de animales de laboratorio) y normas éticas internacionales para el cuidado y uso de animales de experimentación. Los ratones se mantuvieron a una temperatura de 22 °C± 3 °C, 70% ± 5% de humedad con ciclos de 12 h de luz obscuridad y con comida/agua. Con número de registro R-2021-1702-010 ante el comité local de investigación de salud 1702.

8.1.4 Microorganismos

Los microorganismos utilizados para la evaluación antimicrobiana son: las bacterias Gram-positivas *Staphylococcus aureus* sensible (*Sa*) y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (*SaR*). Las bacterias fueron mantenidas en agar tríptico de soja, se ensayó en agar Mueller-Hinton, Los bioensayos se realizaron en el Centro de Investigación Biomédica del Sur (CIBIS-IMSS).

8.2 MÉTODOS

8.2.1 Colecta de *Prosopis laevigata*

Se colectaron 2.65 kg de hoja fresca (*P. laevigata*), obteniéndose 1.47 kg de material seco.

8.2.2 Obtención de extractos: *n*-hexano (PIEH), diclorometano (PIED) y metanol (PIEM) de *Prosopis laevigata*

La hoja fresca se secó a la sombra, a temperatura ambiente, después se molió y se realizó una extracción seriada del material vegetal iniciando con *n*-hexano (PIEH), diclorometano (PIED) y metanol (PIEM). La extracción se efectuó durante dos días por duplicado, 1.4 kg de hoja seca fueron maceradas con 5 L de cada disolvente, respectivamente. El disolvente fue eliminado totalmente por destilación a presión reducida en un rotavapor (BUCHI 205), posteriormente los extractos se secaron mediante una liofilizadora, por último, fueron colocados en refrigeración.

8.3 Fraccionamiento del extracto con mayor actividad antiinflamatoria y antimicrobiana

Se realizó el fraccionamiento químico de PIED, debido a que este extracto mostró mayor inhibición tanto en el modelo de edema de oreja de ratón inducido por TPA y mayor inhibición del crecimiento contra las bacterias *Staphylococcus aureus* y resistente a meticilina en el modelo antimicrobiano, es decir la bioautografía.

8.3.1 Fraccionamiento químico de PIED obtenido de *P.laevigata*

21.1 g de PIED de *P.laevigata* se absorbieron en 51 g de sílice, los cuales se separaron en una columna cromatográfica abierta empacada con 150 g de gel de sílice en *n*-hexano (100%); iniciando con este disolvente y posteriormente se eluyó con gradientes de *n*-hexano – acetato de etilo, de 90% - 10% hasta 100% acetato de etilo, por último, la columna se lavó con metanol 100%; 35 fracciones de 500 mL fueron obtenidas, las que mostraron patrones similares en cromatografía en capa fina fueron agrupadas obteniéndose 8 subfracciones (**Tabla 1**).

Tabla 1. Fraccionamiento químico de PIED de *P. laevigata*

Polaridad del sistema	Fracciones	Subfracciones	Clave
<i>n</i> -hexano (100%)	1-3	1 1-4	1-R1
<i>n</i> -hexano/AcOEt (90:10)	4-7	2 5-6	1-R2
<i>n</i> -hexano/AcOEt (80:20)	8-11	3 7-11	1-R3
<i>n</i> -hexano/AcOEt (70:30)	12-15	4 12-15	1-R4
<i>n</i> -hexano/AcOEt (60:40)	16-19	5 16-20	1-R5
<i>n</i> -hexano/AcOEt (50:50)	20-23	6 21-27	1-R6
<i>n</i> -hexano/AcOEt (30:70)	24-27	7 28-32	1-R7
AcOEt (100%)	28-32	8 33-35	1-R8
Metanol (100 %)	33-35		

Mediante cromatografía en capa fina se observaron los posibles componentes mayoritarios, en las subfracciones 1-R3, 1-R6 y 1-R7, los cuales fueron evaluados en el método antiinflamatorio.

8.3.2 Proceso químico de la subfracción 1-R6

La subfracción 1-R6 (1.5 g) se absorbió en 6 g de sílice en fase normal, se separó en una columna cromatográfica abierta empacada con 65 g de sílice en fase normal, iniciando con el disolvente *n*-hexano 100% y posteriormente se eluyó con gradientes de *n*-hexano – acetato de etilo, hasta llegar a 100% de acetato de etilo, por último, se lavó con metanol. Se obtuvieron 58 fracciones de 10 mL, de las cuales las que mostraron patrones similares en cromatografía en capa fina fueron agrupadas obteniéndose 15 subfracciones (**Tabla 2**).

Tabla 2. Fraccionamiento químico de la subfracción 1-R6

Polaridad del sistema	Fracciones	Subfracciones	Clave	
<i>n</i> -hexano (100%)	1-3	1	1-5	2-R1
<i>n</i> -hexano/AcOEt (95:5)	4-7	2	6-9	2-R2
<i>n</i> -hexano/AcOEt (90:10)	8-12	3	10-11	2-R3
<i>n</i> -hexano/AcOEt (85:15)	13-17	4	12-14	2-R4
<i>n</i> -hexano/AcOEt (80:20)	18-22	5	15-18	2-R5
<i>n</i> -hexano/AcOEt (75:25)	23-27	6	19-21	2-R6
<i>n</i> -hexano/AcOEt (70:30)	28-32	7	22-27	2-R7
<i>n</i> -hexano/AcOEt (65:35)	33-37	8	28-32	2-R8
<i>n</i> -hexano/AcOEt (60:40)	38-42	9	33-35	2-R9
<i>n</i> -hexano/AcOEt (50:50) <i>n</i> -	43-48	10	36-38	2-R10
<i>n</i> -hexano/AcOEt (30:70)	49-53	11	39-43	2-R11
AcOEt (100%)	54-56	12	44-47	2-R12
Metanol (100 %)	57-58	13	48-50	2-R13
		14	51-56	2-R14
		15	57-58	2-R15

8.3.3 Proceso químico de la subfracción 2-R10

La subfracción 2-R10 (0.2 g) se absorbió en 1 g de sílice en fase normal y en 1 g de sílice en fase reversa, se separó en una columna cromatográfica abierta empacada con 8 g de sílice en fase reversa, iniciando con sistema de H₂O – acetonitrilo 70%-30 % hasta llegar a 100% de acetonitrilo, por último, se lavó con metanol. Se obtuvieron 96 fracciones de 10 mL, de las cuales las que mostraron patrones similares en cromatografía en capa fina fueron agrupadas obteniéndose 19 subfracciones (**Tabla 3**).

Tabla 3. Fraccionamiento químico de la subfracción 2-R10

Polaridad del sistema	Fracciones	Subfracciones	Clave	
H ₂ O/CH ₃ CN (70:30)	1-6	1	1-5	3-R1
H ₂ O/CH ₃ CN (65:35)	7-11	2	6	3-R2
H ₂ O/CH ₃ CN (60:40)	12-16	3	7-9	3-R3
H ₂ O/CH ₃ CN (55:45)	17-21	4	10-11	3-R4
H ₂ O/CH ₃ CN (50:50)	22-27	5	12-17	3-R5
H ₂ O/CH ₃ CN (45:55)	28-33	6	18-21	3-R6
H ₂ O/CH ₃ CN (40:60)	34-38	7	22-33	3-R7
H ₂ O/CH ₃ CN (35:65)	39-43	8	34-40	3-R8
H ₂ O/CH ₃ CN (30:70)	44-48	9	41-43	3-R9
H ₂ O/CH ₃ CN (25:75)	49-53	10	44-46	3-R10
H ₂ O/CH ₃ CN (20:80)	54-58	11	47-49	3-R11
H ₂ O/CH ₃ CN (15:85)	59-64	12	50-53	3-R12
H ₂ O/CH ₃ CN (10:90)	65-70	13	54-64	3-R13
H ₂ O/CH ₃ CN (5:95)	71-76	14	65-70	3-R14
CH ₃ CN (100%)	77-85	15	71-72	3-R15
Metanol (100%)	86-96	16	73-74	3-R16
		17	75-76	3-R17
		18	77-85	3-R18
		19	86-96	3-R19

8.3.4 Proceso químico de la subfracción 2-R12y 2-R13

La subfracción 12 y 13 se mezclaron, obteniéndose así 0.218 g, esto se absorbió en 4 g de sílice en fase normal, se separó en una columna cromatográfica abierta empacada con 8 g de sílice en fase normal, iniciando con el disolvente diclorometano (100%) hasta llegar a un sistema diclorometano – acetona 50% - 50%, por último, se lavó con metanol. Se obtuvieron 57 fracciones de 10 mL, de las cuales las que mostraron patrones similares en cromatografía en capa fina fueron agrupadas obteniéndose 7 subfracciones (**Tabla 4**).

Tabla 4. Fraccionamiento químico de la subfracción 2-R12 y 2-R13

Polaridad del sistema	Fracciones	Subfracciones	Clave	
CH ₂ Cl ₂ (100%)	1-6	1	1-11	4-R1
CH ₂ Cl ₂ / acetona (98:2)	7-18	2	12-16	4-R2
CH ₂ Cl ₂ /acetona (95:5)	19-30	3	17-27	4-R3
CH ₂ Cl ₂ /acetona (90:10)	31-42	4	28-33	4-R4
CH ₂ Cl ₂ /acetona (70:30)	43-47	5	34-44	4-R5
CH ₂ Cl ₂ /acetona (50:50)	48-52	6	45-51	4-R6
Metanol (100%)	53-57	7	52-57	4-R7

Al monitorear las subfracciones de la columna 4 en cromatografía en capa fina en fase reversa, se observó mediante rayos UV la separación de compuestos con posible actividad biológica, en un sistema 5-5 H₂O/acetoniitrilo (**Figura 4**), siendo así la subfracción 4-R3 la cual se sometió a análisis de HPLC.

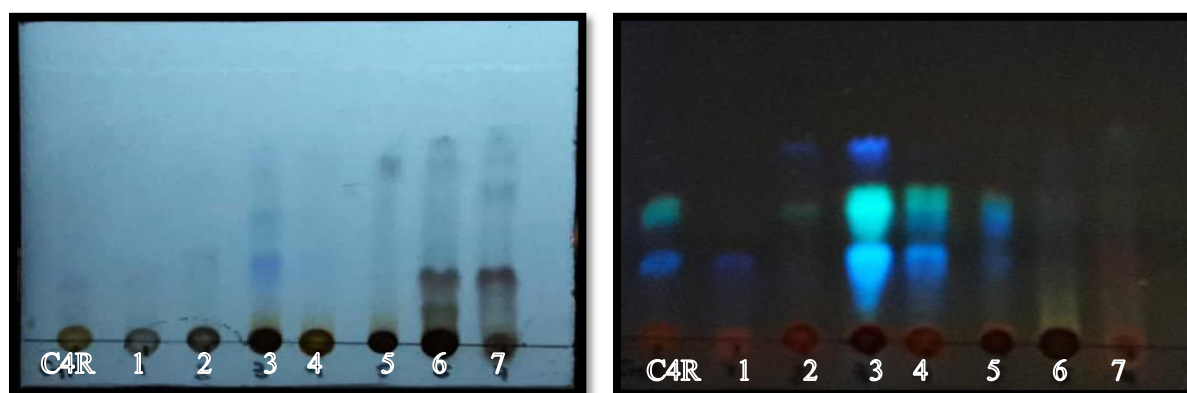


Figura 4. Cromatografía en capa fina en fase reversa de las subfracciones de la columna 4. Sistema 5-5 H₂O/CH₃CN

Una quinta cromatografía en columna en fase reversa de la subfracción 1-R7 de la columna 1, permitió separar 1.3 g de la misma, con la finalidad de aislar un metabolito secundario con posible actividad antiinflamatoria o antimicrobiana.

8.3.5 Purificación del veratrato de etilo (VE)

La 1-R7 (1.3 g), obtenida del extracto de PIED en la columna 1, se absorbió en 1.5 g de sílice en fase normal y 1.5 g de sílice en fase reversa. Se separó en una columna cromatográfica abierta, empacada con 10 g de sílice en fase reversa disuelto en metanol. Esta columna fue estabilizada con 100% metanol y posteriormente 100% agua, para iniciar el proceso de purificación. Después de adicionar 100% agua, se cambió la fase móvil a un sistema H₂O - acetonitrilo 80% - 20%. La

polaridad de esta fase móvil fue disminuyendo mediante incrementos continuos del disolvente menos polar hasta llegar a un sistema H₂O - acetonitrilo 50% -50%. Se obtuvieron 53 fracciones de 10 mL, estas fueron agrupadas de acuerdo a su contenido químico, ya que mostraron patrones similares en CCF de fase reversa (**Tabla 5**).

Tabla 5. Fraccionamiento químico de la subfracción 1-R7

Polaridad del sistema	Fracciones	Subfracciones	Clave
H ₂ O-CH ₃ CN (80:20)	1-11	1 1-12	5-R1
H ₂ O-CH ₃ CN (70:30)	12-32	2 13-14	5-R2
H ₂ O-CH ₃ CN (60:40)	33-43	3 15	5-R3
H ₂ O-CH ₃ CN (50:50)	44-53	4 16-18	5-R4
Metanol (100%)	54	5 19	5-R5
		6 20	5-R6
		7 21-22	5-R7 (VE)
		8 23-27	5-R8
		9 28-30	5-R9
		10 31	5-R10
		11 32-34	5-R11
		12 35-37	5-R12
		13 38-39	5-R13
		14 40-43	5-R14
		15 44-53	5-R15
		16 54	5-R16

Al monitorear las subfracciones de esta columna en CCF en fase reversa, se observó mediante la lámpara de UV la separación de compuestos que absorben la luz, en un sistema H₂O – acetonitrilo 50% -50% (**Figura 5, 6, 7, 8**). Las fracciones 15-28 y la 31, fueron enviados a HPLC debido a que se observan compuestos aparentemente puros, sin embargo, no fue así, a excepción de las fracciones 21 y 22, es decir la subfracción 5-R7 (VE), que por precipitación se observó un compuesto puro, este fue identificado como veratrato de etilo (**15**), por análisis de Resonancia Magnética Nuclear ¹H y ¹³C, y el cual posteriormente se sometió a evaluación antiinflamatoria.

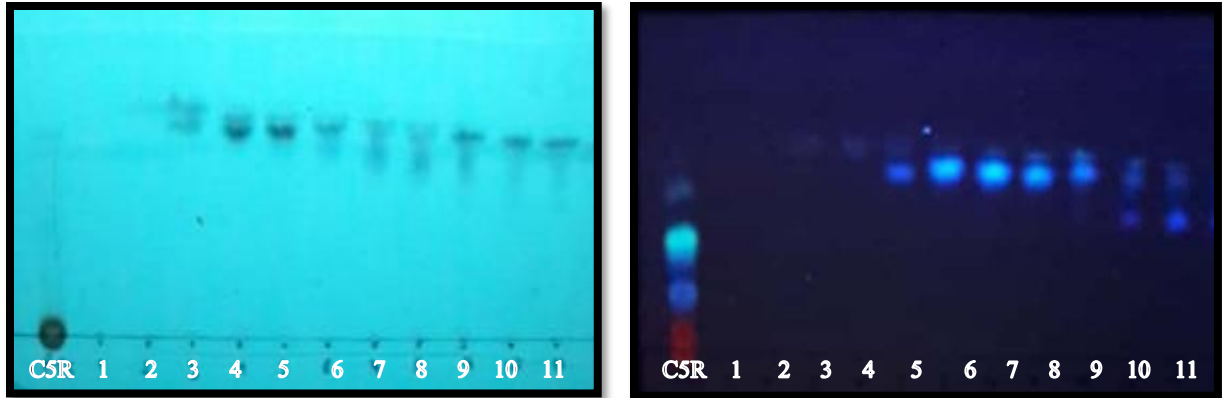


Figura 5. Cromatografía en capa fina en fase reversa de las fracciones 1 a 12.
Sistema 5-5 H₂O/CH₃CN

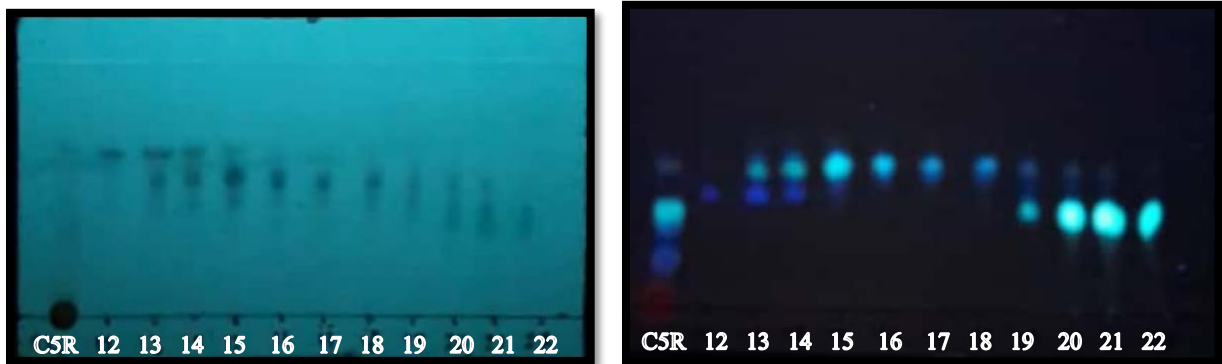


Figura 6. Cromatografía en capa fina en fase reversa de las fracciones 12 a 22.
Sistema 5-5 H₂O/CH₃CN

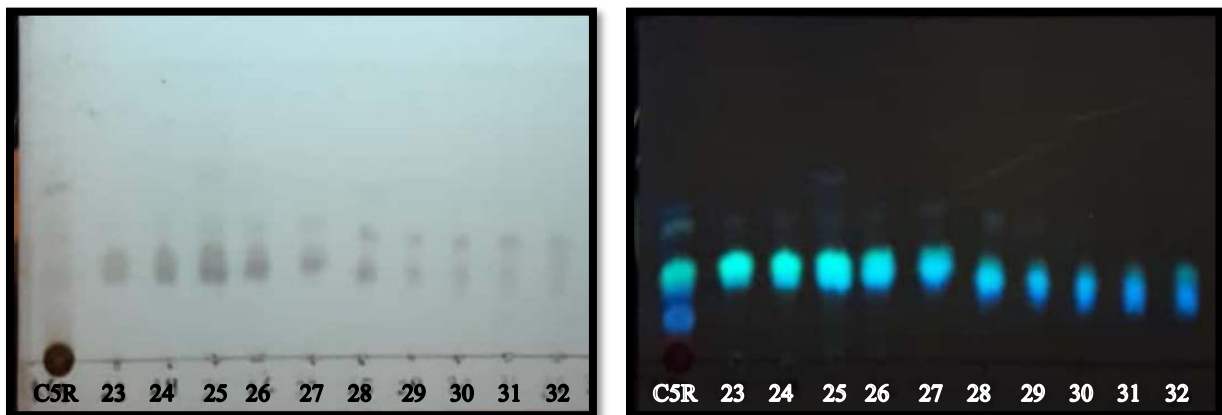


Figura 7. Cromatografía en capa fina en fase reversa de las fracciones 23 a 32.
Sistema 5-5 H₂O/CH₃CN

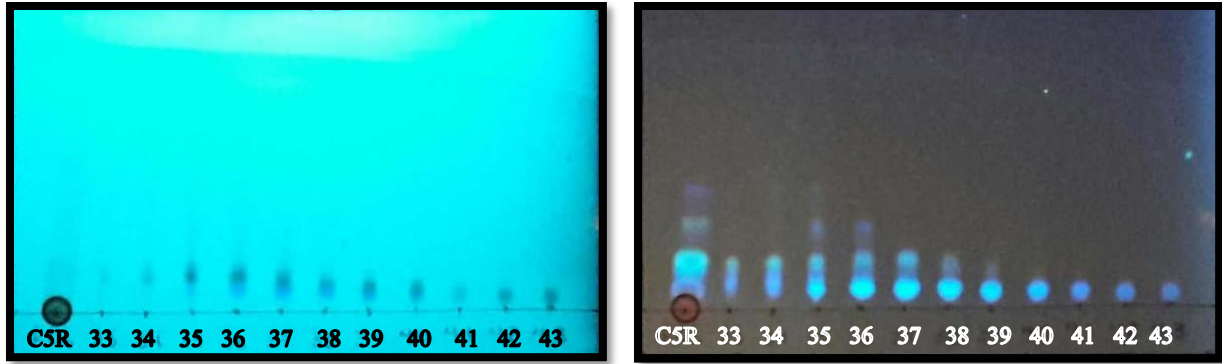


Figura 8. Cromatografía en capa fina en fase reversa de las fracciones 33 a 43.
Sistema 5-5 H₂O/CH₃CN

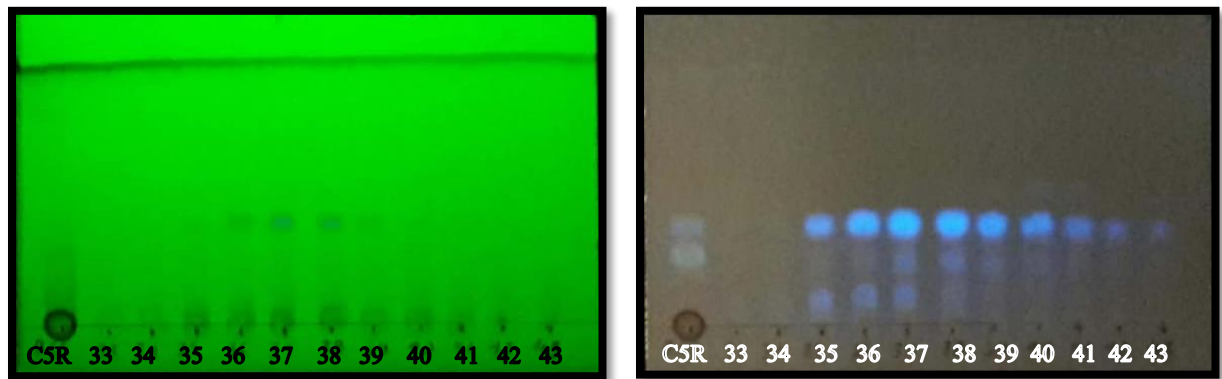


Figura 9. Cromatografía en capa fina en fase normal de las fracciones 33 a 43.
Sistema 5-5 *n*-hexano/AcOEt

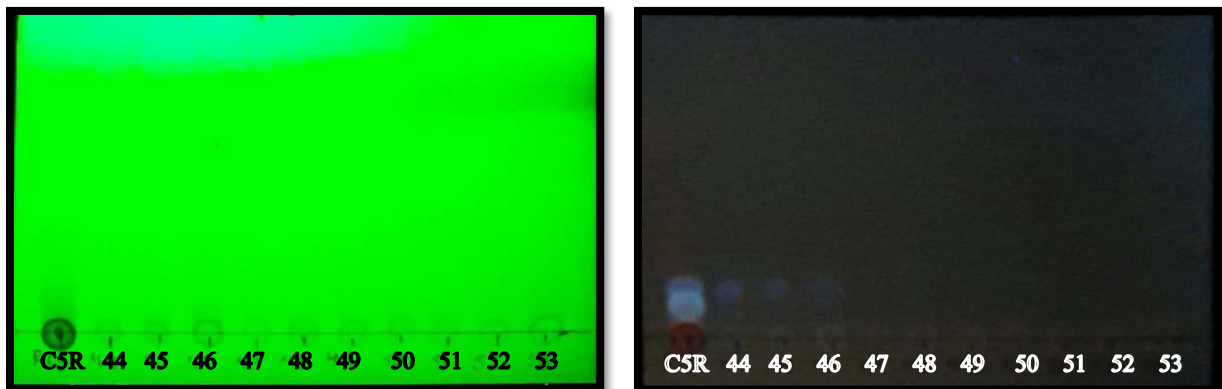


Figura 10. Cromatografía en capa fina en fase normal de las fracciones 44 a 53.
Sistema 5-5 *n*-hexano/AcOEt

8.3.6 Modelo *in vivo* de edema auricular en ratón inducido por TPA

Se siguió el método descrito por Salinas-Sánchez *et al.*, 2012. Se hicieron agrupaciones de ratones, cada uno de seis individuos a los cuales se les aplicó 2.5 µg de TPA disuelto en acetona (20 µL) en la superficie interna y externa del pabellón auricular para causar edema. Las muestras en estudio fueron disueltas en acetona y se aplicaron tópicamente sobre la oreja del ratón por ambos lados inmediatamente después de la administración de TPA. Las dosis fueron las siguientes: 1 mg/oreja de cada extracto, 1 mg/oreja de fracción/compuesto puro. La indometacina (INDO) se aplicó a una dosis de 1 mg/oreja. Seis horas después de la administración del agente inflamatorio, los animales fueron sacrificados por dislocación cervical. Se tomaron secciones circulares de 6 mm de diámetro de las orejas tratadas y no tratadas, las cuales se pesaron para determinar la inflamación. El porcentaje de inhibición se obtendrá usando la siguiente expresión:

$$\text{Inhibición\%} = [\Delta w \text{ control} - \Delta w \text{ tratamiento} / \Delta w \text{ control}] [100]$$

donde $\Delta w = wt - wnt$; wt es el peso de la sección de la oreja tratada; wnt es el peso de la sección de la oreja no tratada.

8.3.7 Bioautografía

Los microorganismos fueron preparados en tubos con 4 mL con caldo Mueller Hinton, dos colonias de cada especie de microorganismo se incubaron durante 2 horas, posteriormente se comparará la turbidez del tubo incubado con el estándar de McFarland número 1 (3×10^9 UFC). Los extractos o fracciones a evaluar se prepararon en placas cromatográficas, dicha placa se eluyó en la caja Petri que contiene las bacterias en estudio, la placa se incubó a 37° C durante 24 horas por separado. Se utilizó sales de Tetrazolium para el revelado de las placas cromatográficas, los resultados fueron analizados después de 2 a 24 horas de incubación.

8.3.8 Concentración mínima inhibitoria

Los microorganismos fueron ensayados en tubos de 4 mL con Caldo Mueller Hinton. Dos colonias de cada especie de microorganismo se incubaron durante 2 horas. La turbidez del tubo incubado se comparó con el estándar de McFarland número 1 (3×10^9 UFC) e igualada con mililitros de las colonias en Caldo Mueller Hinton. Las muestras de los extractos a evaluar fueron concentradas mediante un rotavapor y/o liofilización, esta se dejó gelificar en una mezcla con 9.6 mL de agar Soya Tripticaseína o Agar Mueller Hinton, para ser incubados a 37 °C durante 24 horas con 2 µL

de la solución salina. La concentración máxima para evaluar el efecto inhibitorio de la muestra de un extracto contra alguno de los microorganismos es de 2 mg/mL.

8.3.9 Método de microdilución en caldo

Las bacterias se estandarizarán al 0,5 de McFarland número 1 (3×10^9 UFC). Los extractos se diluyeron en dimetilsulfóxido (DMSO, 200 μ L) y agua (800 μ L), los cuales se evaluaron a concentraciones de 8, 16 y 32 mg/mL en microplacas de 96 pozos de fondo plano, en cada pozo se colocaron 100 μ L de caldo Luria Bertani (LB) o Mueller Hinton o nutritivo y diluciones seriadas de los extractos. Posteriormente, se inocularon e incubaron 2 μ L de cepas bacterianas a 37°C durante 24 horas. La ceftazidima (10 μ g/mL) se usó como control positivo. Transcurrido el tiempo de incubación se adicionó a cada pozo 30 μ L de colorante de sales de tetrazolium, de esta manera se considerarán activos todos los extractos en concentraciones menores a 8 mg/mL.

8.3.10 Análisis estadísticos

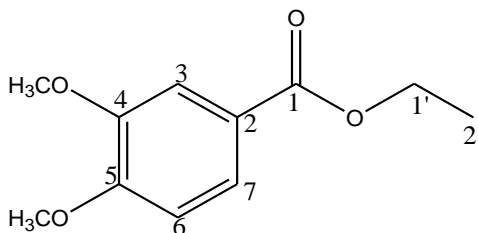
Los resultados obtenidos se expresarán como \pm Error Estándar de la Media (ESM), los datos fueron analizados usando un análisis de varianza (ANOVA) y post-prueba Dunnet, $*p < 0.05$.

9. RESULTADOS

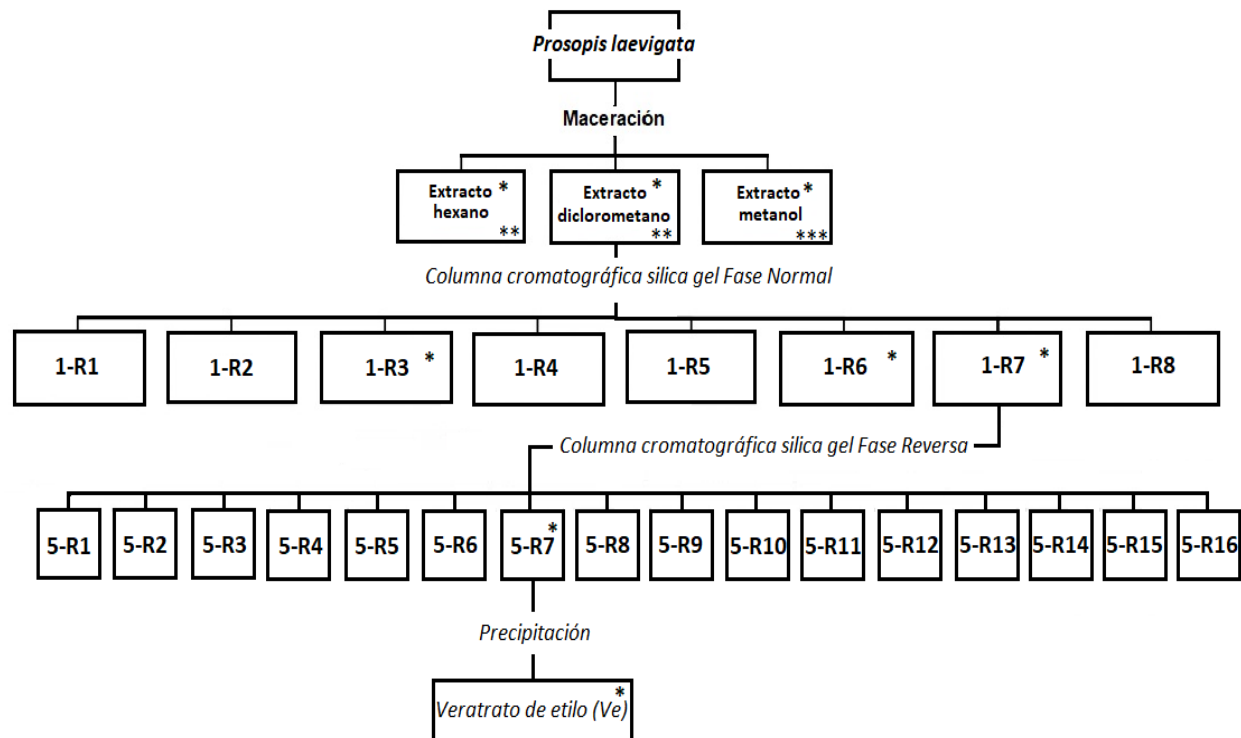
9.1 Rendimiento de los extractos PIEH, PIED Y PIEM

Tres extractos fueron obtenidos de las hojas de *P. laevigata*, los rendimientos de dichos extractos son los siguientes, 0.33% del extracto de *n*-hexano (PIEH), 1.49% del extracto de diclorometano (PIED) y 8,79% del extracto de metanol (PIEM).

El extracto de diclorometano de las hojas de *P. laevigata* (PIED) demostró una actividad antiinflamatoria importante. La purificación de este extracto mediante un fraccionamiento en columna abierta en fase normal permitió obtener una fracción antiinflamatoria 1-R7. El fraccionamiento de 1-R7 en fase reversa produjo un precipitado amarillo que mostró un potente efecto antiinflamatorio, el cual fue identificado como veratrato de etilo (VE) (**15**) (**Figura 11**), por análisis de resonancia magnética nuclear ^1H y ^{13}C (**Anexos 2-6**). El análisis de HPLC mostró un tiempo de retención de 9.5 min, y un espectro de UV de $\lambda_{\text{nm}} = 211, 249.8, 307.7$ y 347, señales características para el ácido verátrico (**15**). Este compuesto no había sido reportado para esta especie.



(**15**) 4,5-dimetoxibenzoato de etilo ó veratrato de etilo



Nota: * Extractos y fracciones con actividad antiinflamatoria.

** Extractos que presentan actividad antimicrobiana con *S. aureus* sensible y resistente en el método de bioautografía y MIC.

*** Extractos que presentan actividad antimicrobiana con *S. aureus* sensible en el método de bioautografía y MIC.

Figura 11. Fraccionamiento químico de *Prosopis laevigata*.

El espectro de RMN de ^{13}C de veratrato de etilo, mostró 11 señales de los cuales cuatro son cuaternarios, tres metinos, un metileno y tres metilos. El espectro de RMN ^1H mostró un sistema de anillo aromático ABX en δ 7.58 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-3), 6.77 (1H, d, $J = 8.9$ Hz H-6) y 7.57 (^1H , dd, $J = 2.0$ y 8.4 Hz, H-7). Adicionalmente se observan señales en δ 3.83 (s) y en 3.82 (s) que de acuerdo al HSQC corresponden a dos metoxilos en δ 55.8 y 55.8 y la presencia de una acetato de etilo en δ 4.25 (2H, q, 7.5) y 1.29 (3H, t, 6.8) que son asignados a H-1' y H-2' respectivamente. De acuerdo al análisis de los datos espectroscópicos (**Tabla 6**) se propone que este compuesto es un anillo aromático tri-sustituido derivado del ácido verátrico denominado como veratrato de etilo ó 4,5-dimetoxibenzoato de etilo.

Tabla 6. Datos espectroscópicos de RMN para el veratrato de etilo (**1**, 600 MHz, CDCl₃, δ ppm, *J* en Hz)

Posición	δ ¹ H (δ in ppm, <i>J</i> in Hz)	δ ¹³ C (HSQC)	HMBC (<i>J</i> ₂₋₃)
	1	1	
1		166.2	7.57, 7.45, 6.77, 4.26
2		122.9	
3	7.45 (1H, d, 2.0)	110.1	123.3, 148.5, 152.8, 166.5
4		148.5	
5		152.8	
6	6.77 (1H, d, 8.9)	111.8	122.9, 148.5, 152.8
7	7.57 (1H, dd, 2.0, 8.9)	123.3	111.8, 148.5, 152.8, 166.2
1'	4.25 (2H, q, 7.5)	60.6	14.2, 166.2
2'	1.29 (3H, t, 6.8)	14.2	60.6
OCH ₃	3.83, s	55.8	152.8
OCH ₃	3.82, s	55.8	148.5

9.2 Evaluación antiinflamatoria de extractos, fracciones y compuesto aislado

9.2.1 Actividad antiinflamatoria de extractos de PIEH, PIED y PIEM.

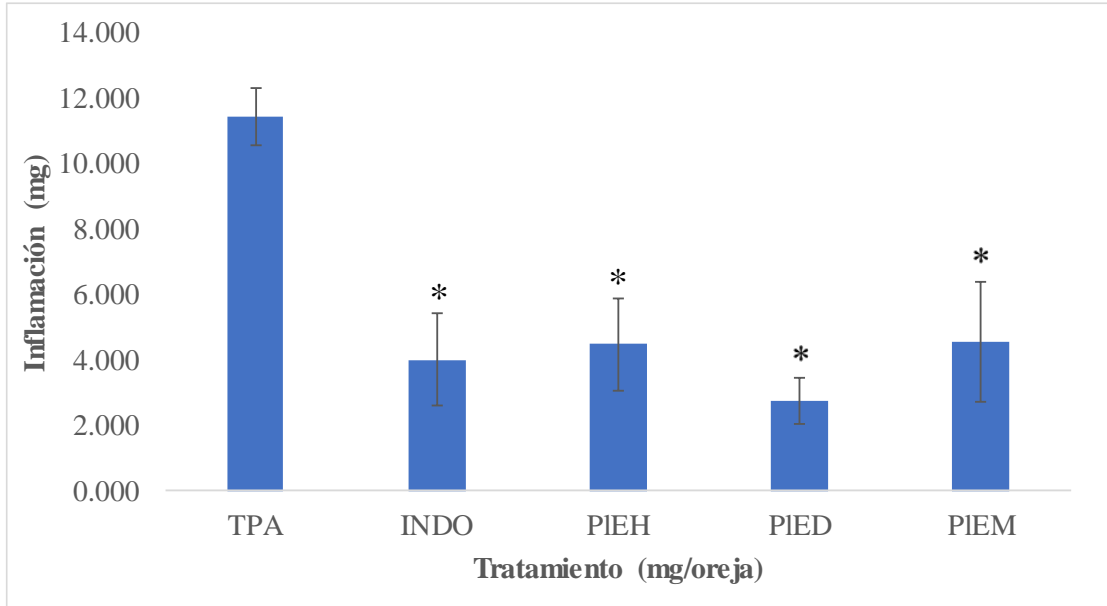
El extracto de PIEH, PIED y de PIEM de las hojas de *P. laevigata* fueron evaluados en el modelo de edema de oreja de ratón inducido por TPA. El extracto PIED inhibió el edema en un 75.9%, el de PIEH en un 60.8% y el de PIEM en un 60% a una dosis de 1 mg/oreja, La indometacina (INDO) a una dosis de 1 mg/oreja presentó una inhibición del edema del 65%. Siendo así el extracto PIED el que presentó mayor inhibición del edema (**Tabla 7**) (**Gráfica 1 y 2**).

Tabla 7. Actividad antiinflamatoria de extractos de PIEH, PIED y PIEM en un modelo de edema auricular en ratón ICR inducido por TPA

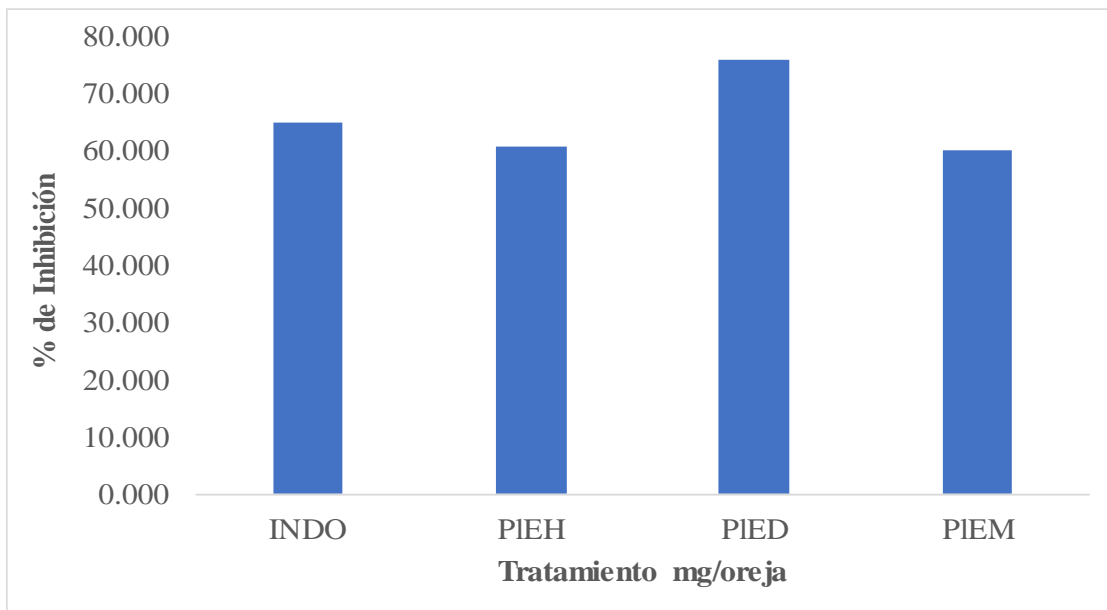
Extracto	Tiempo (h)	Dosis (mg/oreja)	Edema (mg) Prom. ± EEM	Inhibición del edema (%)
TPA		--	11.43 ± 0.87	--
INDO		1	4 ± 1.40*	65.01
PIEH	6	1	4.48 ± 1.83*	60.81
PIED		1	2.74 ± 0.68*	75.96
PIEM		1	4.54 ± 1.41*	60.29

**p* < 0.05 en comparación con el grupo TPA, que sólo recibió como vehículo acetona.

Cabe destacar que en el presente trabajo el extracto PIED exhibe un mayor porcentaje de inhibición del edema, por lo que se decidió continuar con el trabajo experimental basado en la separación química y actividad farmacológica de este extracto.



Gráfica 1. Efecto de la administración local del extracto PIEH, PIED y PIEM a 1 mg/oreja, sobre el edema (diferencia de peso) inducido con TPA en el pabellón auricular de ratones ICR. INDO= indometacina. Anova post-Dunnet, $p < 0.05$.



Gráfica 2. Los resultados muestran que el extracto PIEH y PIEM, inhibieron el edema en 60.81% y 60.2%, mientras que el extracto PIED en un 75.9%, respectivamente a una dosis de 1 mg/oreja. Mientras que la INDO (control positivo) a 1 mg/oreja mostró un 65% de inhibición del edema.

9.2.2 Actividad antiinflamatoria de fracciones y del VE en el modelo de Edema auricular de ratón inducido por TPA

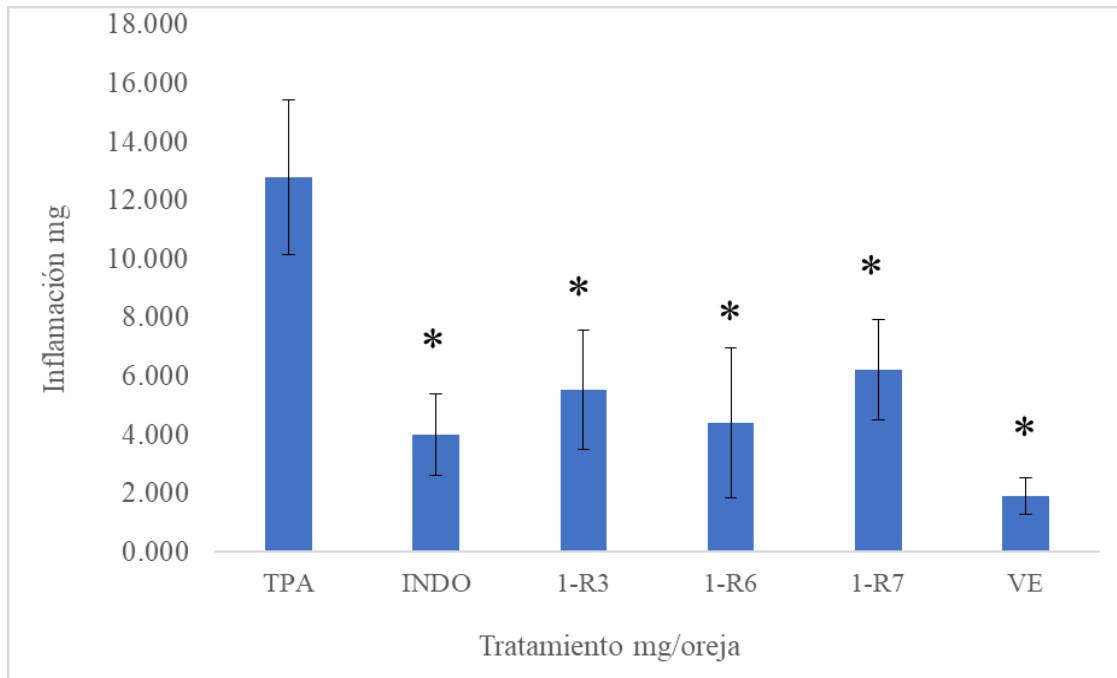
Las fracciones del extracto PIED de las hojas de *P. laevigata* fueron evaluadas en el modelo de edema de oreja de ratón inducido por TPA. Los resultados muestran que VE inhibió el edema en un 85.1%, 1-R3 en un 56.5%, 1-R6 en un 65.4 % y 1-R7 en un 51.2% a una dosis de 1 mg/oreja. INDO a una dosis de 1 mg/oreja presentó una inhibición del edema del 68.7%. Siendo así el compuesto aislado VE el que presentó mayor inhibición del edema con un 85.1% procedente de la fracción 1-R7 de la columna 1 con una inhibición del 5.2 % (Tabla 8) (Gráfica 3 y 4).

Tabla 8. Actividad antiinflamatoria de fracciones, subfracciones y VE en un modelo de edema auricular en ratón ICR inducido por TPA

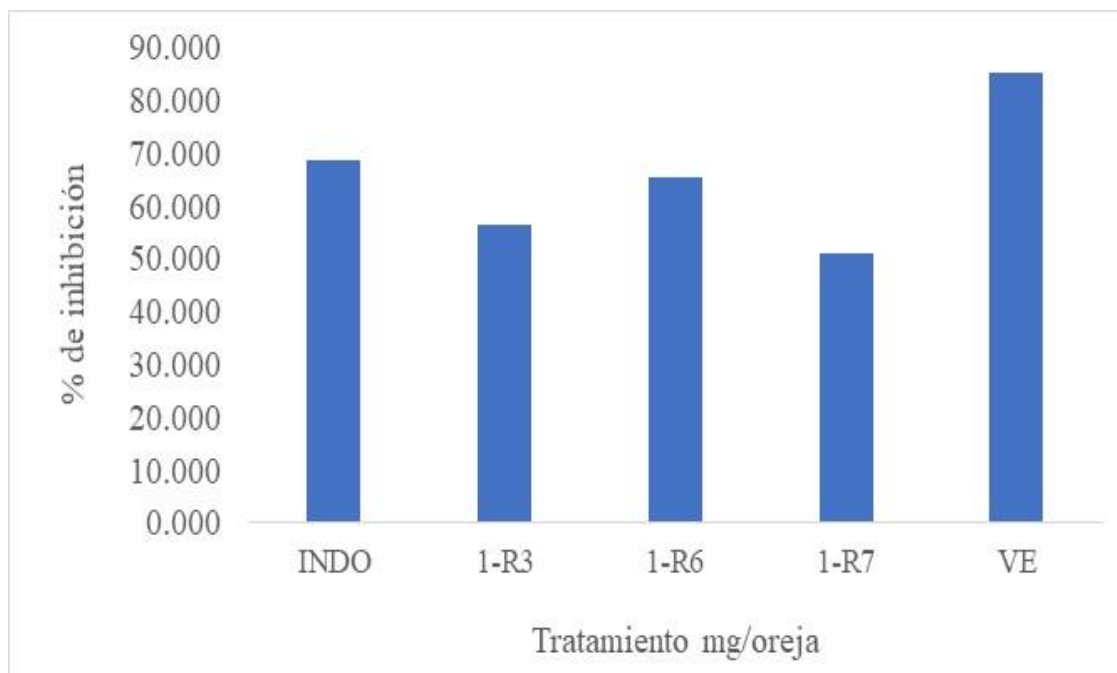
Fracciones/ compuesto	Tiempo (h)	Dosis (mg/oreja)	Edema (mg) Prom. ± EEM	Inhibición del edema (%)
TPA		--	12.783 ± 2.64	--
INDO		1	4.000 ± 1.40 *	68.709
1-R3		1	5.550 ± 2.03 *	56.584
1-R6	6	1	4.417 ± 2.55 *	65.450
1-R7		1	6.233 ± 1.70 *	51.239
VE		1	1.90 ± 0.63 *	85.137

* $p < 0.05$ en comparación con el grupo TPA, que sólo recibió como vehículo acetona.

Los datos mostrados, indican que las 3 fracciones tienen compuestos capaces de inhibir el edema auricular, a la misma dosis que INDO. Cabe destacar que el VE se purificó a partir de la fracción 1-R7.



Gráfica 3. Efecto de la administración local de 1-R3, 1-R6, 1-R7 y VE a 1 mg/oreja, sobre el edema (diferencia de peso) inducido con TPA en el pabellón auricular de ratones ICR. INDO= indometacina. Anova post-prueba Dunnett, $p < 0.05$.



Gráfica 4. Los resultados muestran que el veratrato de etilo (VE) inhibió el edema en un 85.1%, 1-R3 en un 56.5%, 1-R6 en un 65.4% y 1-R7 en un 51.2% a una dosis de 1 mg/oreja. La INDO a una dosis de 1 mg/oreja presentó una inhibición del edema del 68.7%.

9.3 Evaluación antimicrobiana de los extractos PIEH, PIED y PIEM

9.3.1 Actividad antimicrobiana ensayados en el método de Bioautografía

Los extractos PIEH, PIED y PIEM de las hojas de *P. laevigata* fueron evaluados en la bioautografía, mediante CCF se observó que PIED y PIEH mostraron mayor actividad contra la bacteria *Staphylococcus aureus* sensible y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, respecto al extracto PIEM. La zona blanca indica que la bacteria no pudo crecer en presencia de esos compuestos (Figura 12) (Tabla 9).

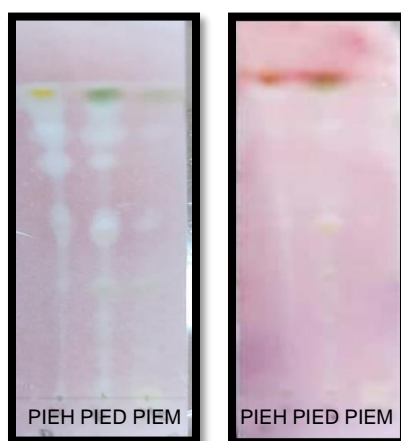


Figura 12. CCF Fase normal de la bioautografía.
Sistema 95:5 diclorometano/metanol.

Tabla 9. Polaridad de compuestos en los que la bacteria no pudo crecer

Nombre de extracto	<i>Sa</i>	<i>SaR</i>
PIEH	Poco polares ++ Mediana polaridad +	Poco polares +
PIED	Mediana polaridad ++ Poco polar ++	Poco polares ++ Mediana polaridad +
PIEM	Mediana polaridad +	

9.3.2 Concentración Mínima Inhibitoria (MIC)

Los extractos PIEH, PIED y PIEM de las hojas de *P. laevigata* fueron evaluados a concentraciones de 2, 1 y 0.5 $\mu\text{g/mL}$. El extracto PIEH tuvo poco efecto a una concentración de 1 $\mu\text{g/mL}$, mientras que el extracto PIED tuvo un efecto a una concentración de 2 $\mu\text{g/mL}$ y 1 $\mu\text{g/mL}$, en cuanto al PIEM

se observó efecto en las tres concentraciones evaluadas. De los cuales el extracto metanólico presentó mayor inhibición del crecimiento contra la bacteria *Sa* a comparación de los otros extractos, respectivamente. Sin embargo, ningún extracto presentó efecto contra *SaR* (**Tabla 10**).

Tabla 10. Evaluación de la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) contra *S. aureus* sensible y resistente a meticilina.

Extracto	<i>Sa</i>	<i>SaR</i>
MIC (µg/mL)		
PIEH	1	NP
PIED	1, 2	NP
PIEM	2, 1, 0.5	NP

9.3.3 Microdilución en caldo

Los extractos PIEH, PIED y PIEM de las hojas de *P. laevigata* fueron evaluados a concentraciones de 32, 16, 8 y 4 µg/mL de los cuales en ninguna de las concentraciones hubo inhibición del crecimiento, lo que nos indica que la concentración puede estar dada en mg, este análisis solo fue evaluado contra la bacteria *Staphylococcus aureus* sensible.

10. DISCUSIÓN

La medicina tradicional en la actualidad, se ha utilizado para abordar las demandas de salud y puede considerarse como la fuente más importante de nuevos compuestos antiinflamatorios y antimicrobianos (Alonso-Castro *et al.*, 2017; Rashid *et al.*, 2021). La sobreexposición a la sustancia irritante 13 acetato de 12-*O*-tetradecanoilforbol (TPA) induce estrés oxidativo, inflamación cutánea e hiperplasia epidérmica, porque aumenta la proliferación de queratinocitos y la producción de citocinas proinflamatorias, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), y la formación de leucotrienos (LTB₄), que resultan en un aumento de la permeabilidad y la afluencia de neutrófilos (Calou *et al.*, 2008). El presente estudio investigó en primera instancia, la actividad antiinflamatoria de extractos orgánicos de polaridad ascendente (*n*-hexano, diclorometano y metanol) de la especie vegetal *Prosopis laevigata*. El estudio mostró que a una dosis de 1 mg/oreja el extracto de diclorometano (PIED) inhibió el 75.9% del edema en oreja de ratón producido por TPA, asimismo el extracto de *n*-hexano (PIEH) demostró tener un porcentaje de inhibición del 60.8% y el extracto de metanol (PIEM) inhibió el crecimiento del edema en un 60.2%; lo que indica que dichos extractos obtenidos de las hojas de *P. laevigata*, exhiben su acción antiinflamatoria mediante la inhibición de mediadores inflamatorios como aminas vasoactivas (histamina y serotonina), péptidos (Bradicinina) y eicosanoides (ácido araquidónico AA, tromboxanos, leucotrienos y prostaglandinas) (Abdulkhaleq *et al.*, 2018). Estudios relacionados con el género, por ejemplo *Prosopis juliflora*, reportan que, extractos metanólicos de la corteza demostraron tener a dosis de 100, 200 y 400 mg/kg efecto antiinflamatorio significativo en modelos tanto agudos como crónicos, a una dosis de 400 mg/kg el extracto mostró una inhibición de la inflamación máxima del 55.32% en el edema de pata de rata inducido por carragenina, en comparación con el diclofenaco estándar, el cual inhibió la inflamación en un 61.33%, transcurridas 3 horas, del mismo modo al evaluar el extracto a las mismas dosis, estas mostraron inhibición dependiente en comparación con los grupos control, contra edema de pata de rata inducido por histamina y serotonina, además de que se observó la reducción de la formación de tejidos de granulación en ratas (SivaKumar *et al.*, 2009). Una investigación realizada del extracto metanólico de la corteza del tallo de la especie *Prosopis africana* se evaluó en el modelo de inflamación inducida por carragenina en ratas a una dosis de 125 mg/kg en el que se observó una inhibición de la inflamación significativamente ($p < 0,001$) del 70,8%, comparándolo con el fármaco estándar piroxicam a dosis de 10 mg/kg con un porcentaje de inhibición del 58.3%,

transcurridas 5 horas de su aplicación (Ayanwuyi *et al.*, 2010). Un estudio reciente de la especie *Prosopis cineraria*, del extracto de hidroalcohólico de la corteza del tallo evaluado a 100 y 300 mg/kg, mostró un efecto antiinflamatorio representativo en el modelo de inflamación en ratones inducidos por Lipopolisacáridos (LPS) a dosis de 2 mg/kg (Sharma y Sharma, 2020). Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación son comparables con los reportados en la literatura e indican la eficacia de los extractos, principalmente el de diclorometano (PIED) ya que poseen propiedades antiinflamatorias a partir de los datos de los resultados de este trabajo, aunque cabe aclarar que no se han reportado hasta el momento actividad antiinflamatoria de especies del género en el modelo de edema en oreja de ratón inducido por TPA. Además, el extracto de diclorometano (PIED) fue sometido a una investigación fitoquímica donde fue posible aislar una fracción 1-R7 con efecto antiinflamatorio, pues inhibió en un 51.2% el edema producido por TPA en la oreja de ratón. En un segundo proceso cromatográfico, fue posible purificar un compuesto con anillo aromático, el cual, por análisis espectroscópicos, espectrométricos y de HPLC fue caracterizado como veratrato de etilo (VE), el cual exhibió una potente actividad antiinflamatoria, inhibiendo el edema en oreja de ratón causado por TPA en un 85.1%. La investigación química y farmacológica sobre los extractos activos de *Prosopis laevigata*, puede ser una fuente potencial de productos naturales con actividad antiinflamatoria.

Por otro lado, la segunda investigación de este estudio, fue determinar la actividad antimicrobiana de los extractos de la especie vegetal *P. laevigata*, frente a un microorganismo patógeno que se encuentra diseminado principalmente en el medio ambiente y forma parte del microbiota de la piel y mucosas del ser humano (Taylor y Unakal, 2019). *Staphylococcus aureus* sensible y resistente a meticilina, es una bacteria Gram positivas patógena, oportunista y nosocomial, causante de una amplia gama de infecciones humanas (Buchan *et al.*, 2019). Es importante comentar que, actualmente las enfermedades infecciosas producidas por este tipo de microorganismo son un problema de gran relevancia en el sector salud ya que este patógeno ha desarrollado resistencia ante los antimicrobianos, por lo que cada día es más difícil combatirlo (Jacobo, 2020). Las bacterias han desarrollado una serie de mecanismos de resistencia a los antibióticos, a nivel extracelular mediante la formación de biopelículas, la impermeabilidad de membranas mediante las porinas membranosas, bombas de expulsión o inhibición de la síntesis de la pared celular; y a nivel intracelular, mediante la modificación del sitio activo o modificación genética (Troncoso, *et al.*, 2017). En el presente trabajo de investigación los extractos de *n*-hexano (PIEH), diclorometano

(PIED) y metanol (PIEM) de la especie en estudio fueron probados en el método de bioautografía, concentración mínima inhibitoria y microdilución en caldo. En el estudio bioautográfico, los tres extractos muestran compuestos inhibidores del crecimiento bacteriano. Al evaluarlos en el método de concentración mínima inhibitoria se observó que estos tuvieron actividad antimicrobiana solo contra la cepa sensible, el extracto de *n*-hexano (PIEH) a una concentración de 1 µg/mL tuvo efecto, el extracto de diclorometano (PIED) a concentraciones de 1 µg/mL y 2 µg/mL, mientras que el extracto de metanol (PIEM) a tres concentraciones 1, 2 y 0.5 µg/mL. Por otro lado, al emplear el método de microdilución en caldo se determinó que los extractos no tuvieron efecto inhibitorio contra la cepa sensible. Un estudio realizado de la misma especie indica que tanto las hojas como los tallos de esta planta medicinal mostraron actividad antimicrobiana notable, el extracto de *n*-hexano tuvo actividad antimicrobiana a 0.5 mg/mL, mientras que el extracto de acetona mostró actividad a 4 mg/mL de concentración mínima inhibitoria (MIC), ambos contra *Staphylococcus aureus* (Salinas-Sánchez *et al.*, 2009). Estudios relacionados del género, por ejemplo, extractos de aceites esenciales de *Prosopis juliflora*, *P. glandulosa* y *P. cineraria* inhibieron significativamente el crecimiento de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus*, los valores de MIC oscilaron entre $3,0 \pm 0,0$ - $18,0 \pm 0,0$ µg/mL; *Staphylococcus aureus* mostró un valor bajo en MIC de $3,0 \pm 0,0$ µg/mL de aceite esencial de *P. glandulosa* (Imam *et al.*, 2019). Un estudio de los extractos metanólicos crudos de *Prosopis juliflora* demostró la actividad antimicrobiana utilizando el método de inhibición de zona, en donde el extracto de raíces evaluado a una concentración de 100 ppm tuvo una zona de inhibición de 7.50 ± 0.71 µg/mL. Por otro lado, el extracto de hojas evaluado a la misma concentración tuvo una zona de inhibición de 8.50 ± 0.71 µg/mL contra la cepa *Staphylococcus aureus* (Rechab *et al.*, 2018). Los resultados obtenidos en la presente investigación indican la eficacia de los extractos contra bacterias patógenas, ya que son comparables con los reportados en la literatura, principalmente el extracto metanólico (PIEM) y el de diclorometano (PIED), ya que poseen mayormente propiedades antimicrobianas a diferencia del extracto hexánico (PIEH), contra *Staphylococcus aureus*, por lo tanto, se deduce que esta planta puede utilizarse como una poderosa herramienta para reducir inflamación y contrarrestar enfermedades producidas por esta bacteria.

11. CONCLUSIÓN

Este estudio nos permitió corroborar el uso medicinal atribuido a esta especie vegetal como antiinflamatorio y antibacteriano. El estudio químico-biológico permitió determinar que el extracto de diclorometano (PIED), las fracciones y el compuesto veratrato de etilo (VE) son los responsables de la actividad antiinflamatoria encontrada. Adicionalmente los tres extractos mostraron inhibición en el crecimiento de la bacteria *Staphylococcus aureus*. Por lo que se concluye que *Prosopis leavigata* podría ser una planta útil para el tratamiento de las enfermedades que involucran procesos antiinflamatorios y contra algunas bacterias.

12. REFERENCIAS

- Abdulkhaleq, L. A., Assi, M. A., Abdullah, R., Zamri-Saad, M., Taufiq-Yap, Y. H., y Hezmee, M. N. M. (2018). The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Veterinary world*, 11(5), 627.
- Acosta-Salas, U. J., Favela-González, K. M., Pérez-García, L. A., del Rio-Arellano, C. N., y de la Fuente-Salcido, N. M. (2019). Extracción preliminar y determinación de la actividad biológica de péptidos de semilla de *Prosopis laevigata* (mezquite). *Revista de Ciencias Farmacéuticas y Biomedicina* (ISSN: 2448-8380), 56-56
- Agrawal, R., Garg, H. K., Garg, U., y Singh, S. K. (2013). Anti-Inflammatory Activity of Seeds of *Prosopis spicigera* in Animals. *Asian Journal of Biological and Life Science*, 2(2).
- Aguayo-Reyes, A., Quezada-Aguiluz, M., Mella, S., Riedel, G., Opazo-Capurro, A., Bello-Toledo, H., y González-Rocha, G. (2018). Bases moleculares de la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus*. *Revista chilena de infectología*, 35(1), 7-14.
- Ahmad, A., Khan, K. A., Ahmad, V. U., y Qazi, S. (1986). Antibacterial activity of juliflorine isolated from *Prosopis juliflora*. *Planta médica*, 52(04), 285-288.
- Ahmad, V. U., Basha, A., y Haque, W. (1978). New Alkaloids from *Prosopis juliflora* DC. *Zeitschrift Für Naturforsch chung B*, 33(3), 347-348.
- Ahmad, V. U., Sultana, A., y Qazi, S. (1989). Alkaloids from the Leaves of *Prosopis juliflora*. *Journal of Natural Products*, 52(3), 497-501. doi:10.1021/np50063a005
- Almanza, S. G., y Moya, E. G. (1986). The uses of mesquite (*Prosopis spp.*) in the highlands of San Luis Potosí, México. *Forest Ecology and Management*, 16(1-4), 49-56.
- Alonso-Castro, A. J., Domínguez, F., Maldonado-Miranda, J. J., Castillo-Pérez, L. J., Carranza-Álvarez, C., Solano, E., y Orozco-Castellanos, L. M. (2017). Use of medicinal plants by health professionals in Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*, 198, 81-86.
- Alvarado Saavedra, S. L., Herrera-Plasencia, P., Enoki-Miñano, E., Ruiz-Barrueto, M., y Millones Gómez, P. A. (2018). *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 70(2), 1-12.).

Arias-Flores, R., Rosado-Quiab, U., Vargas-Valerio, A., y Grajales-Muñiz, C. (2016). Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales en el Instituto Mexicano del Seguro Social. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 54(1), 20-24.

Ayanwuyi, L. O., Yaro, A. H., y Abodunde, O. M. (2010). Analgesic and anti-inflammatory effects of the methanol stem bark extract of *Prosopis africana*. *Pharmaceutical biology*, 48(3), 296-299.

Barreno, P. G. (2008). Inflamación. *Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 102(1), 91-160.

Botargues, M., ENZ, P. A., y Musso, C. G. (2011). Tratamiento con corticoides. Evidencia, actualización en la práctica ambulatoria, 14(1).

Buchan, K. D., Foster, S. J., y Renshaw, S. A. (2019). *Staphylococcus aureus*: setting its sights on the human innate immune system. *Microbiology*, 165(4), 367-385.

Bustos-Martínez, J. A., Hamdan-Partida, A., y Gutiérrez-Cárdenas, M. (2006). *Staphylococcus aureus*: the reemergence of a pathogen in the community. *Revista Biomédica*, 17(4), 287-305.

Calou, I.B.; Sousa, D.I.; Cunha, G.M.; Brito, G.A.; Silveira, E.R.; Rao, V.S.; Santos, F.A. Topically applied diterpenoids from *Egletes viscosa* (Asteraceae) attenuate the dermal inflammation in mouse ear induced by tetradecanoylphorbol 13-acetate- and oxazolone. *Biol. Pharm. Bull.* (2008), 31, 1511–1516.

Cantón, R., García, J. E., Gómez, L., Martínez, L., Rodríguez, C., Vila, J., y García, J. A. (2000). Procedimientos en Microbiología Clínica. Métodos Básicos Para el Estudio de la Sensibilidad a los Antimicrobianos en Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Editor Picazo J J.

Cañavate, J. L. R. (1994). Fitoterapia de la inflamación. *Natura Medicatrix: Revista médica para el estudio y difusión de las medicinas alternativas*, (37), 80-85.

Cervantes-García, E., García-González, R., y Salazar-Schettino, P. M. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 61(1), 28-40.

Chandra, N., y Kumar, S. (2017). Antibiotics producing soil microorganisms. In *Antibiotics and Antibiotics Resistance Genes in Soils* (pp. 1-18). Springer, Cham.

Cheng, X., Zhang, L., Qian, C., Du, Z., Xu, P., y Xiang, Z. (2020). Chemical compositions of essential oil extracted from *Lavandula angustifolia* and its prevention of TPA-induced inflammation. *Microchemical Journal*, 104458.

Chung, H. Y., Kim, H. J., Kim, J. W., y Yu, B. P. (2001). The inflammation hypothesis of aging: molecular modulation by calorie restriction. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 928(1), 327-335.

Corzo, A. G., Bravo, E., Serrano, F., y Vattuone, M. A. (2009). Actividad antibacteriana de extractos de hojas de *Prosopis alba*, Griseb, frente a cepas patógenas humanas y fitopatógenas. *Quebracho-Revista de Ciencias Forestales*, 17(1-2), 106-114.

Cushnie, T. P. T., y Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343–356.

De Jesús-Gabino, A. F., Mendoza-de Gives, P., Salinas-Sánchez, D. O., López-Arellano, M. E., Liébano-Hernández, E., Hernández-Velázquez, V. M., y Valladares-Cisneros, G. (2010). Anthelmintic effects of *Prosopis laevigata* n-hexanic extract against *Haemonchus contortus* in artificially infected gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Journal of helminthology*, 84(1), 71-75.

De Young, L. M., Kheifets, J. B., Ballaron, S. J., y Young, J. M. (1989). Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. *Agents and actions*, 26(3-4), 335-341.

Delgado-Altamirano, R., Monzote, L., Piñón-Tápanes, A., Vibrans, H., Rivero-Cruz, J. F., Ibarra-Alvarado, C., y Rojas-Molina, A. (2017). *In vitro* antileishmanial activity of Mexican medicinal plants. *Heliyon*, 3(9), e00394.

Delgado-Núñez, E. J., Zamilpa, A., González-Cortazar, M., Olmedo-Juárez, A., Cardoso-Taketa, A., Sánchez-Mendoza, E., y Mendoza-de Gives, P. (2020). Isorhamnetin: A Nematocidal Flavonoid from *Prosopis laevigata* Leaves Against *Haemonchus contortus* Eggs and Larvae. *Biomolecules*, 10(5), 773.

Dorado O., Maldonado B., Arias D.M., Sorani V. Ramírez R., Leyva E. y D. Valenzuela (2005). Programa de Conservación y Manejo Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, México, D.F.

Elmezughi, J., Shittu, H., Clements, C., Edrada-Ebel, R. A., Seidel, V., y Gray, A. (2013). Bioactive natural compounds from *Prosopis africana* and *Abies nobili*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(3), 40-43.

Foster, T. J., y Geoghegan, J. A. (2015). *Staphylococcus aureus*. *Molecular Medical Microbiology*, 655–674.

Franco, L. A., Matiz, G. E., Calle, J., Pinzón, R., y Ospina, L. F. (2007). Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones obtenidas de cálices de *Physalis peruviana* L. *Biomédica*, 27(1), 110-115.

Gallegos-Infante, J. A., Rocha-Guzmán, N. E., González-Laredo, R. F., y García-Casas, M. A. (2013). Efecto del procesamiento térmico sobre la capacidad antioxidante de pinole a base de vainas de mezquite (*Prosopis laevigata*). *CyTA-Journal of Food*, 11(2), 162-170.

Galofré, J. C. (2009). Manejo de los corticoides en la práctica clínica. *rev med univ Navarra*, 53(1), 9-18.

García-Andrade, M., González-Laredo, R. F., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., Rosales-Castro, M., y Medina-Torres, L. (2013). Mesquite leaves (*Prosopis laevigata*), a natural resource with antioxidant capacity and cardioprotection potential. *Industrial Crops and Products* 44, 336-342.

Estrada, H. A. G., Ruiz, K. N. G., y Medina, J. D. (2011). Actividad antiinflamatoria de productos naturales. *Boletín latinoamericano y del caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 10(3), 182-217.

Gopinath, S. M., Reddy, J. M., Dayanand, K. S., y Shankar, A. (2013). To evaluate the antipyretic activity of *Prosopis juliflora* ethanolic extract in brewer's yeast induced hyperthermia in rats.

Hecker, E., Bartsch, H., Bresch, H., Gschwendt, M., Härle, B., Kreibich, G., y Thielmann, H. W. (1967). Structure and stereochemistry of the tetracyclic diterpene phorbol from *croton tiglium* L. *Tetrahedron Letters*, 8(33), 3165–3170.

Henciya, S., Seturaman, P., James, A. R., Tsai, Y.-H., Nikam, R., Wu, Y.-C., Chang, F. R. (2017). Biopharmaceutical potentials of *Prosopis spp.* (Mimosaceae, Leguminosa). *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 187–196.

Hernández Marín, D. A. (2015). Aislamiento y purificación de metabolitos secundarios de plantas con actividad antimicrobiana contra microorganismos farmacorresistentes del grupo ESKAPE. Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León.

Hernández, T., Canales, M., Ávila, J. G., Duran, A., Caballero, J., De Vivar, A. R., y Lira, R. (2003). Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (México). *Journal of ethnopharmacology*, 88(2-3), 181-188.

Hernández, T., Canales, M., Caballero, J., Durán, Á., y Lira, R. (2005). Análisis cuantitativo del conocimiento tradicional sobre plantas utilizadas para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales en Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. *Interciencia*, 30(9), 529-535.

IDEEX Laboratorios (2018). Guía microbiológica para interpretar la concentración mínima inhibitoria (CMI). Recuperado de: <https://www.idexx.es/files/mic-gui%CC%81a-microbiolo%CC%81gica-es.pdf>

Iloki-Assanga, S. B., Gil-Salido, A. A., Lewis Luján, L. M., Rosas-Durazo, A., Acosta-Silva, A. L., Rivera-Castañeda, E. G., y Rubio-Pino, J. L. (2013). Cell growth curves for different cell lines and their relationship with biological activities. *Int J Biotechnol Mol Biol Res*, 4(4), 60-70.

Imam, R., Rafiq, M., Sheng, Z., Naqvi, S. H. A., Talpur, F. N., Ahmed Mohamed, A. A., y Jokhio, M. A. (2019). Evaluation of Physicochemical Properties and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Seeds of *Prosopis juliflora*, *P. glandulosa* y *P. cineraria*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(2), 554-562.

Jacobo, V. M. C. (2020). Resistencia bacteriana a antimicrobianos. *Milenaria, Ciencia y arte*, (15), 6-8.

Juthani, V. V., Clearfield, E., y Chuck, R. S. (2017). Non-steroidal anti-inflammatory drugs versus corticosteroids for controlling inflammation after uncomplicated cataract surgery. Cochrane Database of Systematic Reviews, (7).

Kowalska-Krochmal, B., y Dudek-Wicher, R. (2021). The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. Pathogens, 10(2), 165.

Lee, A. S., de Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A., y Harbarth, S. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Nature reviews Disease primers, 4(1), 1-23.

León Regal, M. L., Borges, A. A., de Armas García, J. O., Miranda Alvarado, L., Cedeño, J. A. V., y del Sol, J. Á. C. (2015). Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares. Revista de Enfermedades no Transmisibles Finlay,5(1), 47-62.

López-Franco, Y. L., Goycoolea, F. M., Valdez, M. A., y de la Barca, A. M. C. (2006). Goma de mezquite: una alternativa de uso industrial. Interciencia,31(3), 183-189.

Loza, E. (2011). AINEs en la práctica clínica: lo que hay que saber. Inf Ter Sist Nac Salud, 35(3), 88-95.

Madan, B. R., Godhwant, I., Dadhich, A., Soni, R. K., Ghosal, K., y Mahatma, O. P. (1972). Phytochemical, pharmacodynamic and anti-inflammatory properties of *Prosopis spicigera* stem bark'. J. Physiol, 960, 104.

Mantovani, A., Dinarello, C. A., Molgora, M., y Garlanda, C. (2019). Interleukin-1 and related cytokines in the regulation of inflammation and immunity. Immunity, 50(4), 778-795.

Matta, D. I. K. S. H. A., Nanda, H. A. R. S. H. I. T., y Mahalingam, G. A. Y. A. T. H. R. I. (2017). Phytopharmaceutical potentials of *Prosopis lavigata*: A review. Asian J Pharm Clin Res, 10, 63-8.

Mazzuca, M., Kraus, W., y Balzaretto, V. (2003). Evaluation of the biological activities of crude extracts from Patagonian *Prosopis* seeds and some of their active principles. Journal of herbal pharmacotherapy, 3(2), 31-37.

Monroe, S., y Polk, R. (2000). Antimicrobial use and bacterial resistance. *Current Opinion in Microbiology*, 3(5), 496–501.

Muratani, T., y Matsumoto, T. (2004). Bacterial resistance to antimicrobials in urinary isolates. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 24, 28–31. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2004.02.001

Naranjo, L. A. G., y Restrepo, J. F. M. (2010). Evaluación de la inflamación en el laboratorio. *Revista Colombiana de Reumatología*, 17(1), 35-47.

Ncube, N. S., Afolayan, A. J., y Okoh, A. I. (2008). Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African Journal of Biotechnology*, 7(12), 1797–1806.

Organización Mundial de la Salud (2016). Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos. Organización Mundial de la Salud. Recuperado de: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/255204>

Organización Mundial de la Salud (13 de octubre 2020). Resistencia a los antimicrobianos. Recuperado de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

Organización Mundial de la Salud (2017). La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. Comunicado de prensa, Ginebra. Recuperado: <https://www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>

Organización Mundial de la Salud (2018). Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo. Recuperado: <https://www.who.int/es/news-room/detail/29-01-2018-high-levels-of-antibiotic-resistance-found-worldwide-new-data-shows>

Pahwa, R., Goyal, A., Bansal, y Jialal, I. (2018). Chronic inflammation. [Internet]. StatPearls Publishing.

Palacios, R. A. (2006). Los mezquites mexicanos: biodiversidad y distribución geográfica. *Sociedad Argentina de Botánica. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 41; 1-2; 28-7-2006; 99-121.

- Pasachova Garzón, J., Ramírez Martínez, S., y Muñoz Molina, L. (2019). *Staphylococcus aureus*: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. *Nova*, 17(32), 25 - 38.
- Passera, C. B. (2000). Fisiología de *Prosopis spp.* *Multequina*, 9(2), 53-80.
- Payá, M., Ferrándiz, M. L., Sanz, M. J., Bustos, G., Blasco, R., Rios, J. L., y Alcaraz, M. J. (1993). Study of the antioedema activity of some seaweed and sponge extracts from the mediterranean coast in mice. *Phytotherapy Research*, 7(2), 159-162.
- Pérez-Cano, H. J., y Robles-Contreras, A. (2013). Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. *Revista médica MD*, 4(3), 187-192.
- Prabha, D. S., Dahms, H. U., y Malliga, P. (2014). Pharmacological potentials of phenolic compounds from *Prosopis spp.*-a. *J coast life med*, 2, 918-924.
- Prieto, J. M. (2007). Antiinflamatorios No Esteroides (AINEs). *cient. dent*,4(3), 203-212.
- PRONARE Programa Nacional de Reforestación (1999). Fichas Técnicas de Especies Forestales Estratégicas. No. 1-3. Gaceta de la Red Mexicana de Germoplasma Forestal. SEMARNAP-PRONARE. México, D.F. Recuperado de: <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/988Prosopis%20laevigata.pdf>
- Rahman, A. A., Samoylenko, V., Jacob, M. R., Sahu, R., Jain, S. K., Khan, S. I., y Muhammad, I. (2011). Antiparasitic and antimicrobial indolizidines from the leaves of *Prosopis glandulosa var. glandulosa*. *Plantamédicaa*, 77(14), 1639-1643.
- Ramirez, L. S., y Castaño, D. M. (2009). Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et technica*, 15(42), 263-268.
- Ramírez-Arteaga, M., Valladares, M. G., y González Rodríguez, J. G. (2013). Use of *Prosopis laevigata* as a corrosion inhibitor for al in H₂SO₄. *International Journal of Electro-chemistry Science*, 8(5), 6864-6877.
- Rashid, S., Majeed, L. R., Nisar, B., Nisar, H., Bhat, A. A., y Ganai, B. A. (2021). Phytomedicines: Diversity, extraction, and conservation strategies. In *Phytomedicine* (pp. 1-33). Academic Press.

- Rechab, S. O., Ngugi, C. M., Maina, E. G., Madivoli, E. S., Kareru, P. G., Mutembei, J. K., y Ruto, M. C. (2018). Antioxidant activity and antimicrobial properties of *Entada leptostachya* and *Prosopis juliflora* extracts. *Journal of Medicinal Plants for Economic Development*, 2(1), 1-8.
- Robledo, G. B. V. (2008). La respuesta inmune. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 51(3), 128-129.
- Saadoun, D. (2020). Corticoterapia sistémica. *EMC-Tratado de Medicina*, 24(1), 1-8.
- Salinas-Sánchez, D. O., Herrera-Ruiz, M., Pérez, S., Jiménez-Ferrer, E., y Zamilpa, A. (2012). Anti-inflammatory activity of hautriwaic acid isolated from *Dodonaea viscosa* leaves. *Molecules*, 17(4), 4292-4299.
- Sánchez-García, E., Castillo-Hernández, S., y García-Palencia, P. (2016). Actividad antimicrobiana. *OmniaScience Monographs*.
- Salinas-Sánchez, D. O., Najera, G. L. A., Rivera, I. L., Dorado, O., Cisneros, M. G. V., y García, M. N. (2009). Antimicrobial activity of medicinal plants from the Huautla Sierra Biosphere Reserve in Morelos (México). *Polibotánica*, (28), 213-225.
- Sánchez, E., Rivas Morales, C., Castillo, S., Leos-Rivas, C., García-Becerra, L., y Ortiz Martínez, D. M. (2016). Antibacterial and antibiofilm activity of methanolic plant extracts against nosocomial microorganisms. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016.
- Sathiya, M., y Muthuchelian, K. (2008). Investigation of Phytochemical Profile and Antibacterial Potential of Ethanolic Leaf Extract of *Prosopis juliflora* DC. *Ethnobotanical leaflets*, 2008(1), 167.
- Sauceda, E. N. R., Martínez, G. E. R., Valverde, B. R., Ruiz, R. M., Hermida, M. D. L. C. C., Torres, S. M. M., y Ruiz, H. H. P. (2014). Análisis técnico del árbol del mezquite (*Prosopis laevigata* Humb. y Bonpl. ex Willd.) en México. *Ra Ximhai*, 10(3), 173-193.
- Secretaría de Salud (2018). La resistencia a los antimicrobianos amenaza la efectividad de los tratamientos. Gobierno de México. Recuperado de: <https://www.gob.mx/salud/articulos/mexico-contra-la-resistencia-a-los-antimicrobianos>

Serra Valdés, M. Á. (2017). La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 16(3), 402-419.

Seija, V., y Vignoli, R. (2006). Principales grupos de antibióticos. *Temas de bacteriología y virología Médica*, 2, 631-633.

Shacter, E., y Weitzman, S. A. (2002). Chronic inflammation and cancer. *Oncology (Williston Park, NY)*, 16(2), 217-26

Sharifi-Rad, J., Hoseini-Alfatemi, S., Sharifi-Rad, M., y Miri, A. (2014). Phytochemical screening and antibacterial activity of different parts of the *Prosopis farcta* extracts against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Minerva Biotecnologica*, 26(4), 287-293.

Sharma, V., y Sharma, P. (2020). Phyto-therapeutic potential of stem bark of the wonder tree, *Prosopis cineraria* (L.) Druce in LPS-induced mouse model: An Anti-Inflammatory Study. *Clinical Phytoscience*, 6(1), 1-8.

SivaKumar, T., Srinivasan, K., Rajavel, R., Vasudevan, M., Ganesh, M., Kamalakannan, K., y Mallika, P. (2009). Isolation of chemical constituents from *Prosopis juliflora* bark and anti-inflammatory activity of its methanolic extracts. *Journal of Pharmacy Research*, 2(3), 551-556.

Suárez, C., y Gudiol, F. (2009). Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 27(2), 116-129.

Tacuri-Sumba, T. E. (2021). Reacciones adversas y mecanismo de acción de antiinflamatorios no esteroides y esteroideos en pacientes asmáticos y con artritis reumatoide (examen complejo). UTMACH, Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud, Machala, Ecuador. 24 p.

Tajbakhsh, S., Barmak, A., Vakhshiteh, F., y Gharibi, M. (2015). *In vitro* antibacterial activity of the *Prosopis juliflora* seed pods on some common pathogens. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 9(8), DC13.

Taroco, R., Seija, V., y Vignoli, R. (2006). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. *Temas de Bacteriología y Virología Médica*, Oficina del libro FEFMUR, Uruguay, 36(1), 665-668.

Taylor, T. A., y Unakal, C. G. (2019). *Staphylococcus aureus*. In Stat Pearls [Internet]. StatPearls Publishing.

Tong, S. Y., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., y Fowler, V. G. (2015). *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical microbiology reviews*, 28(3), 603-661.

Tracy, R. P. (2006). The five cardinal signs of inflammation: calor, dolor, rubor, tumor and penuria (apologies to Aulus Cornelius Celsus, *De medicina*, c. AD 25). *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 61(10), 1051-1052.

Troncoso, C., Pavez, M., Santos, A., Salazar, R., y Barrientos, L. (2017). Implicancias estructurales y fisiológicas de la célula bacteriana en los mecanismos de resistencia antibiótica. *International Journal of Morphology*, 35(4), 1214-1223.

Turner, N. A., Sharma-Kuinkel, B. K., Maskarinec, S. A., Eichenberger, E. M., Shah, P. P., Carugati, M., y Fowler, V. G. (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nature Reviews Microbiology*, 17(4), 203-218.

Ukande, M. D., Shaikh, S., Murthy, K., y Shete, R. (2019). Review on Pharmacological potentials of *Prosopis juliflora*. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(4-s), 755-760.

Vedak, S., y Raut, S. V. (2014). Study on antibacterial compounds from methanolic extract of bark of *Prosopis juliflora* (Vilayati babhul). *Int J Pharm Sci Bus Manag*, 2, 1e14.

Velázquez-Meza, M. E. (2005). Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilinorresistente. *Salud pública de México*, 47(5), 381-387.

Villalba Herrera, E. W. (2014). Inflamación I. *Revista de Actualización Clínica Investiga*, 43, 2261.

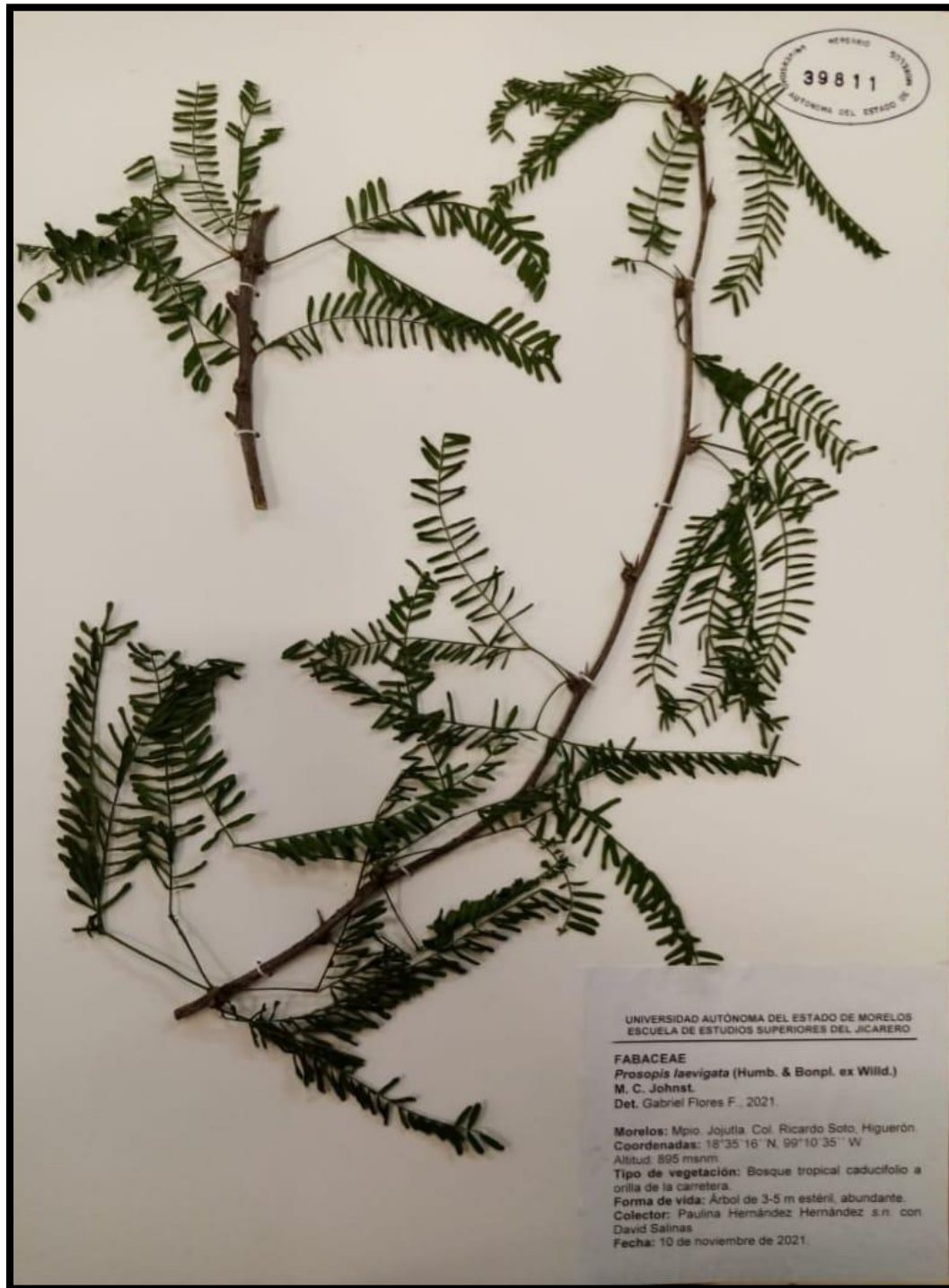
Villalva, A. S. G., Moreira, E. A. K., Vega, F. A. F., y Cevallos, M. A. C. (2019). Antiinflamatorios no esteroideos (AINES) causa de falla renal. *Recimundo*, 3(3 Esp), 548-572.

Yadav, E., Singh, D., Yadav, P., y Verma, A. (2018). Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Prosopis cineraria* based phenolic rich ointment in wound healing. *Biomedicine y Pharmacotherapy*,108, 1572-1583.

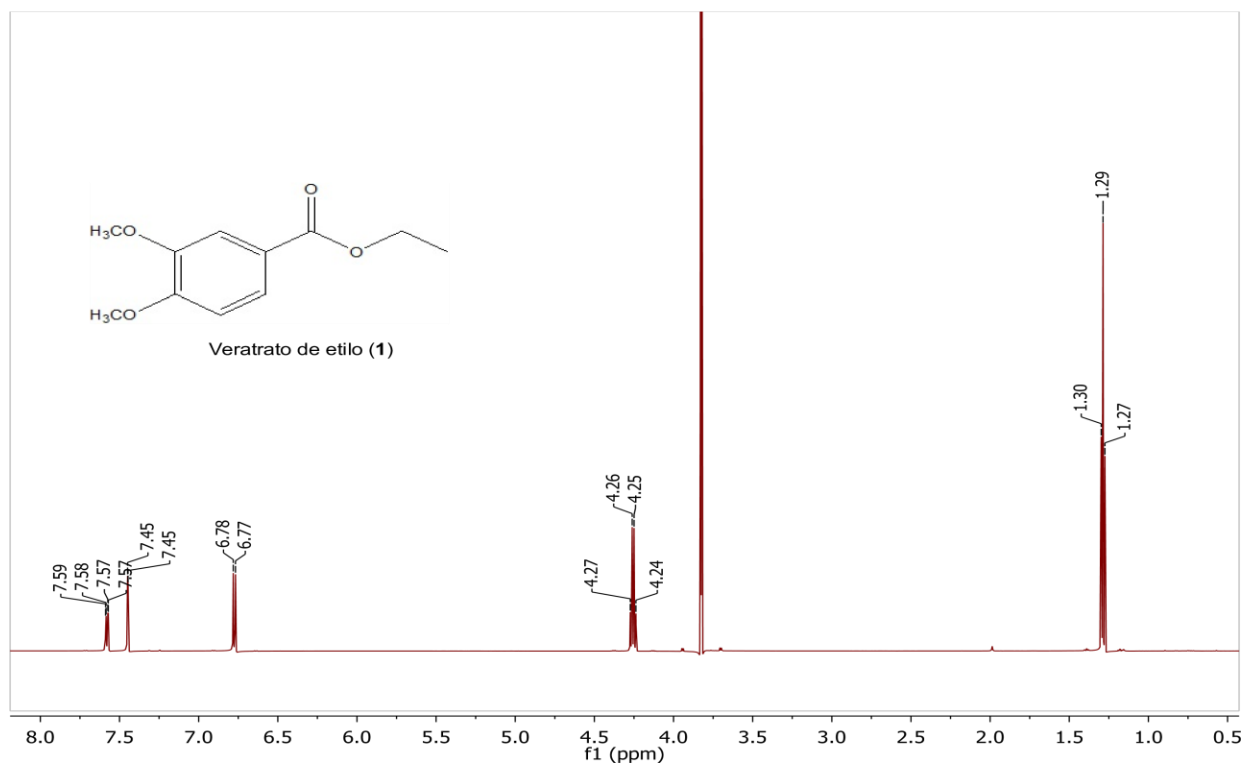
Yueqin, Z. (2006). Identificación y actividad farmacológica de principios de especies antiinflamatorias. Universitat de València.

Zendejas-Manzo, G. S., Avalos-Flores, H., y Soto-Padilla, M. Y. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Revista Biomédica*, 25(3), 129-143.

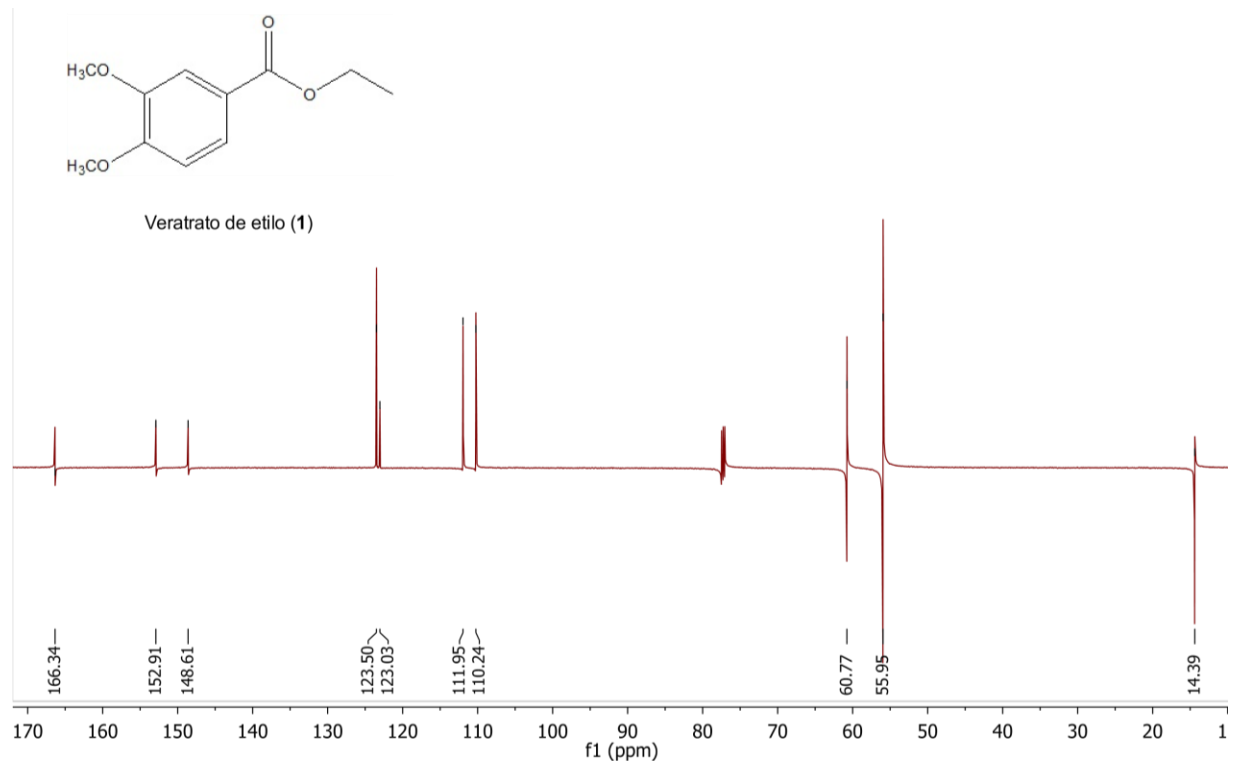
13. ANEXO



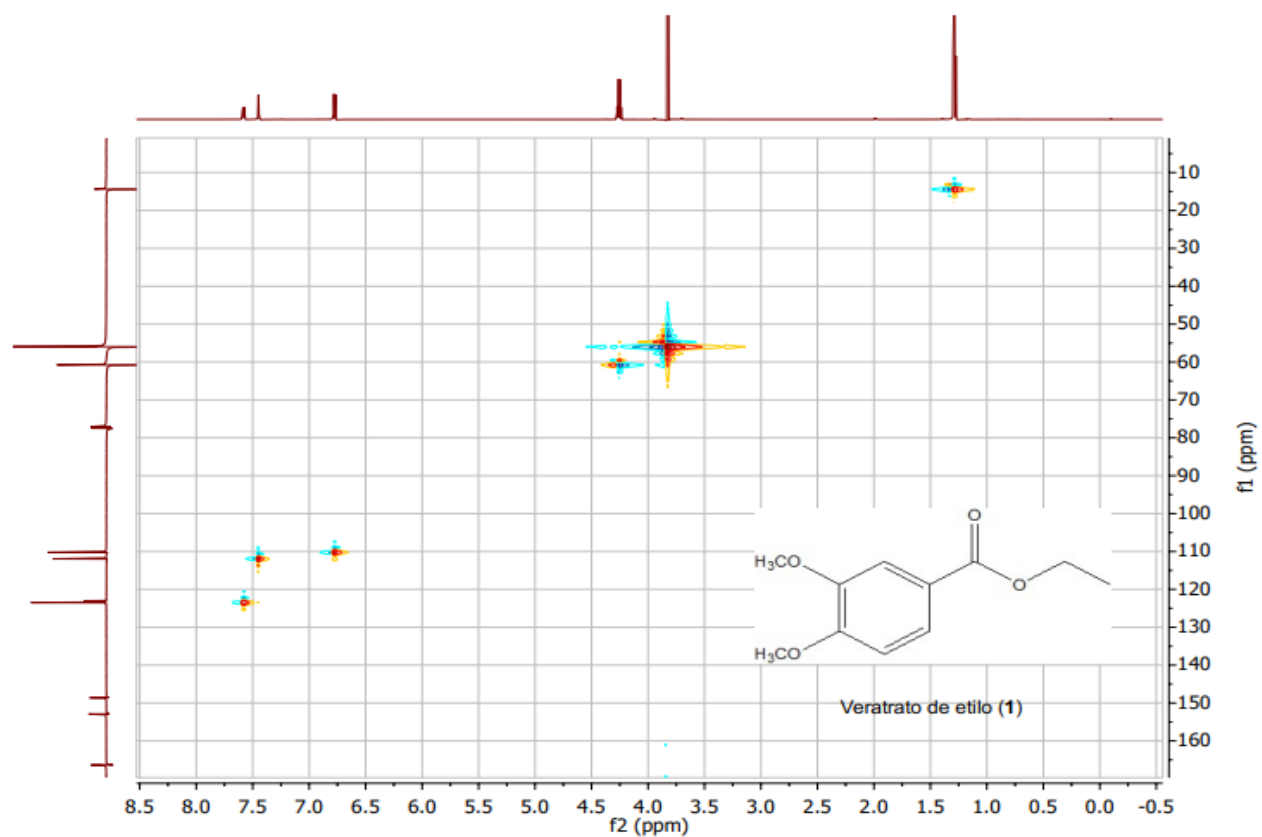
Anexo 1: Ejemplar colectado (*Prosopis laevigata*) con número de herbario 39811.



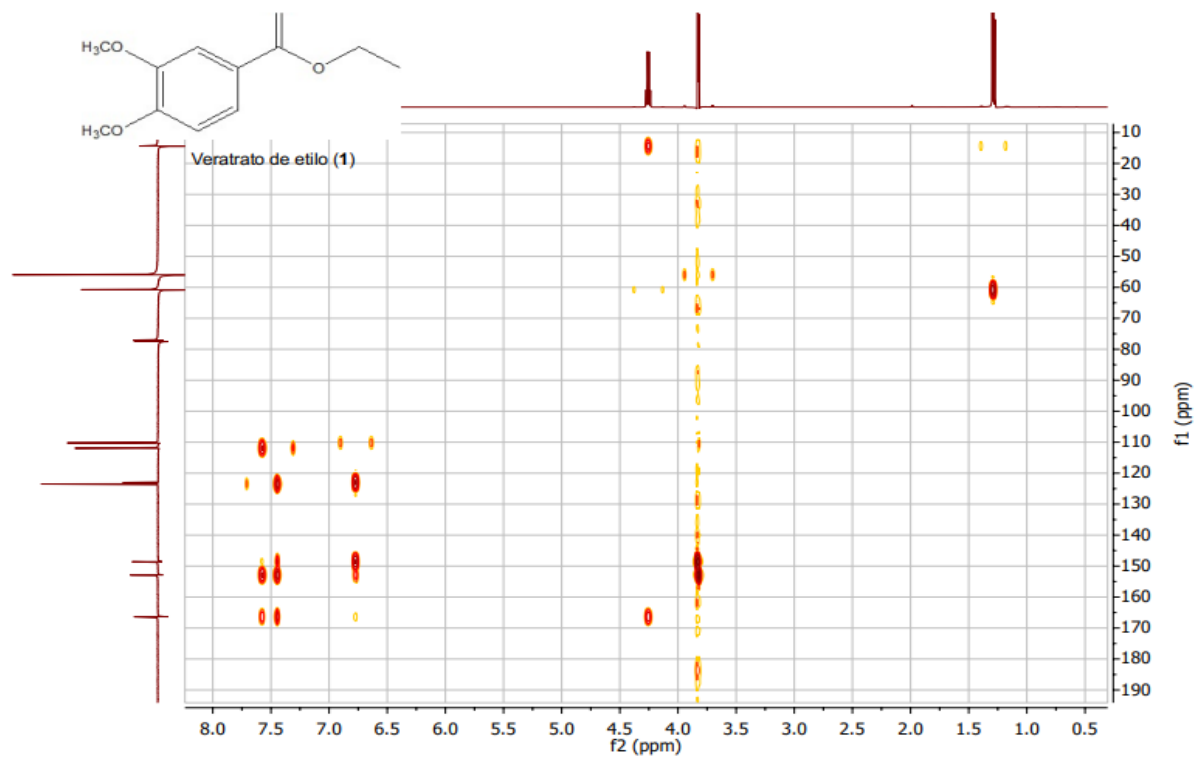
Anexo 2: RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) de veratrato de etilo (1)



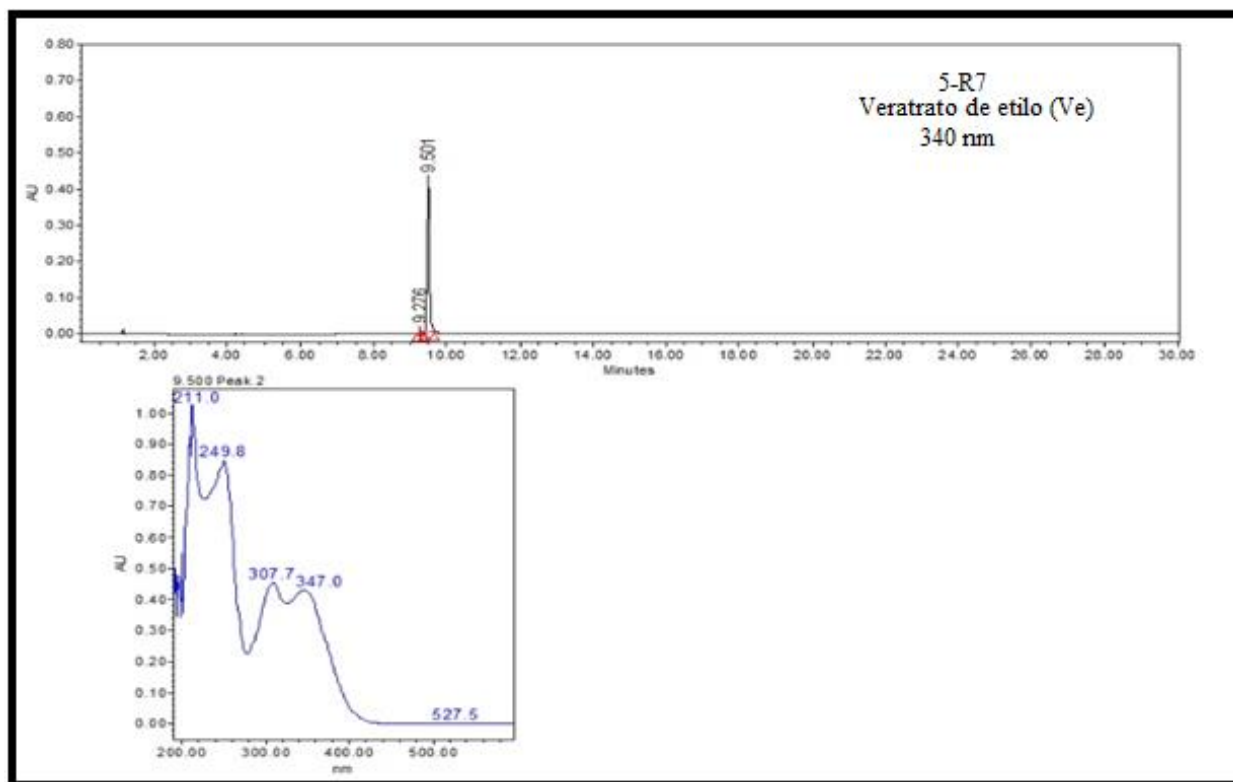
Anexo 3: RMN de ^{13}C -DEPT (CDCl_3 , 150 MHz) de veratrato de etilo (1)



Anexo 4: RMN de ^1H - ^{13}C (HSQC) en CDCl_3 de veratrato de etilo (1)



Anexo 5: RMN de ^1H - ^{13}C (HMBC) en CDCl_3 de veratrato de etilo (1)



Anexo 6: Cromatograma de HPLC del veratrato de etilo (VE)