



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

ESCUELA DE ESTUDIOS SUPERIORES DEL JICARERO

Evaluación del perfil antimicrobiano y del efecto anticonvulsivante  
del extracto acetónico de *Malpighia mexicana* A. Juss.

**TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS  
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

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

**FRANCELI ITZEL BATALLA MARTINEZ**

**DIRECTOR DE TESIS: DR. DANTE AVILÉS MONTES**

**CODIRECTOR: DR. DAVID OSVALDO SALINAS SÁNCHEZ**

**JOJUTLA, MORELOS**

**ABRIL, 2023**



El presente trabajo se realizó en:



**Centro de Investigación en Biodiversidad y  
Conservación**  
**Laboratorio de Fitoquímica y Productos Naturales**  
**Universidad Autónoma del Estado de Morelos**

## **AGRADECIMIENTOS**

**Al Dr. Dante Avilés Montes**, por la confianza que tuvo en mi al inicio de este proyecto, por brindarme su apoyo, así como todo el tiempo académico que me ha dedicado durante la realización de este proyecto, gracias por los conocimientos que me ha brindado y por ser un gran maestro, un gran doctor y una muy buena persona.

**Al Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez**, Por todo el apoyo que me ha brindado durante la elaboración de este proyecto por la confianza que tuvo en mí y por todo el tiempo académico que me dedico para poder desarrollar este proyecto, por ser una gran persona, un gran doctor y un muy buen maestro, Muchas gracias Dr.

**A la Mtra. Isaura Quintana Padilla**, por ser una excelente profesora y una gran persona y por apoyarme en este proyecto Muchas gracias, profesora.

**A la Dra. Ofelia Sotelo Caro**, por ser una excelente profesora y por brindarme su apoyo durante la elaboración de este proyecto, Muchas Gracias Doctora.

**A la Dra. María Dolores Pérez García**, gracias Doctora, por el apoyo que me brindo durante este proyecto, así como por ser una excelente doctora.

**Al Ing. Jorge Aurelio Manzo Espín**, por haberme apoyado durante este proyecto, así como por ser un excelente profesor y una gran persona.

**A mis amigos de la universidad del jicarero**, Saira Alcántara, Paulina Romero, Daniel Acevedo y Andrey Bonfil por todo el apoyo que me brindaron por estar siempre para apoyarme a lograr mis metas los quiero.

**A la ESCUELA DE ESTUDIOS SUPERIORES DEL JICARERO**, por abrirme las puertas y por haberme formado académicamente para ser una gran bióloga.

**A la UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS**, por ser una gran institución y por comprometerse a formar nuevos profesionistas.

**AI CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN**, por permitirme realizar mi proyecto de investigación y por ser parte de mi formación académica.

## DEDICATORIAS

A mi madre **Rosa Isela Martínez**, por siempre cuidarme y por apoyarme, por estar hay para mí, por hacerme una buena persona, por apoyarme a ser mejor cada día por apoyar siempre mis metas y sueños y por todo el cariño que me ha dado, te amo mama.

A mi abuelita María **Rico**, por preocuparse por mí, por ser un gran apoyo y por siempre estar hay para mi cuando la necesito, La amo abuelita.

A mi padre **Miguel Ángel Batalla**, por apoyarme a cumplir mis metas y por todo el cariño que me ha dado, te amo papa.

A mis hermanos **Mónica Batalla** y **Irving Batalla**, por siempre estar para mí y por siempre apoyarme, por hacer que mi vida sea más feliz, los amo.

A mi hermana **Ruby Batalla**, por ser un gran apoyo para mí por estar cuando más la necesito, por ayudarme hacer una mejor persona te amo hermana.

A mi mejor amiga **Dafne Abúndez**. Por ser un gran apoyo para mí por estar hay cuando más la necesito por siempre escucharme y apoyarme en las decisiones que tomo, te amo amiga.

# ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS .....	i
DEDICATORIAS .....	ii
ÍNDICE .....	iii
INDICE DE FIGURAS .....	vi
INDICE DE TABLAS.....	ix
ABREVIATURAS .....	x
RESUMEN .....	1
1. INTRODUCCIÓN .....	3
2. ANTECEDENTES .....	4
2.1 Infecciones bacterianas.....	4
2.1.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	4
2.1.2 <i>Escherichia coli</i> .....	5
2.1.3 Tratamiento de las infecciones bacterianas.....	5
2.1.4 Resistencia antimicrobiana.....	6
2.2 Infecciones fúngicas .....	6
2.2.1 <i>Candida albicans</i> .....	7
2.2.2 Tratamiento de las infecciones fúngicas.....	7
2.3 Modelos de evaluación de la actividad antimicrobiana.....	7
2.3.1 Método de difusión en pozos de agar .....	7
2.3.2 Concentración mínima inhibitoria .....	8
2.4 Epilepsia .....	8
2.5 Clasificación .....	9
2.5.1 Tratamiento farmacológico de la epilepsia.....	10
2.6 Modelos de evaluación de la actividad anticonvulsivante.....	10
2.6.1 Convulsiones inducidas con pentilentetrazol (metrazol) .....	10
2.7 Antecedentes de la planta de estudio .....	11
2.7.1 Género <i>Malpighia</i> .....	11
2.7.2 <i>Malpighia mexicana</i> A. Juss. ....	11

Descripción botánica .....	11
2.7.3 Descripción botánica y taxonómica .....	12
2.7.4 Ubicación geográfica .....	13
2.7.5 Usos etnomédicos .....	13
2.7.6 Farmacología y fitoquímica .....	13
3. JUSTIFICACIÓN .....	14
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN .....	15
5. HIPÓTESIS .....	15
6. OBJETIVOS .....	15
6.1 Objetivo general.....	15
6.2 Objetivos particulares.....	15
7. MATERIAL Y MÉTODOS .....	16
7.1 General.....	16
7.2 Colecta e identificación de la especie vegetal .....	17
7.3 Obtención del extracto.....	17
7.4 Cromatografía en capa fina .....	18
7.5 Fraccionamiento Químico.....	19
7.6 Fraccionamiento químico de la fracción MmR8.....	23
7.8 Animales de experimentación .....	25
7.9 Microorganismos de experimentación.....	26
7.10 Modelos de ensayos.....	27
7.10.1 Evaluación de la actividad antimicrobiana.....	27
7.10.2 Microorganismos utilizados.....	27
7.10.3 Fármacos de referencia .....	27
7.10.4 Medios de cultivo.....	27
7.10.5 Preparación del inóculo .....	27
7.11 Método modificado de difusión en pozos de agar .....	27
7.12 Convulsiones inducidas con pentilentetrazol (metrazol).....	28
7.13 Análisis estadístico .....	29
8. RESULTADOS .....	30
8.1 Rendimiento del extracto <i>Malpighia mexicana</i> .....	30

8.2 Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto MmEA .....	30
8.3 Actividad anticonvulsivante del extracto acetónico de <i>Malpighia mexicana</i> ....	31
8.4 Análisis de HPLC.....	34
9. DISCUSIÓN .....	36
10. CONCLUSIONES .....	38
11. PERSPECTIVAS.....	39
12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> <i>M. mexicana</i> .....	12
<b>Figura 2.</b> Colecta de las hojas de <i>Malpighia mexicana</i> .....	17
<b>Figura 3.</b> Molienda de la planta seca.....	18
<b>Figura 4.</b> Maceración de la especie.....	18
<b>Figura 5.</b> Destilación de la planta.....	18
<b>Figura 6.</b> Reveladores 2-aminoetil difenil borinato (NP-PEG) y 4-hidroxibenzaldehído (Komarovsky).....	18
<b>Figura 7:</b> Cromatografía en capa fina fase normal, Komarovsky, 95:5: MeOH-CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> . Presencia de terpenos.....	19
<b>Figura 8:</b> Placa cromatográfica en fase normal, 95:5 MeOH- CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> . Presencia de flavonoides.....	19
<b>Figura 9.</b> Columna cromatográfica abierta.....	20
<b>Figura 10.</b> Placa cromatográfica en fase normal, sistema 70-30 % <i>n</i> -hexano-acetona, luz visible.....	21
<b>Figura 11.</b> Placa cromatográfica en fase normal, eluída en una proporción 95-5% diclorometano-metanol, luz visible.....	21
<b>Figura 12.</b> Placa cromatográfica en fase normal eluída en una proporción 70-30% <i>n</i> -hexano-acetona, revelada con detección de flavonoides y luz UV de onda larga (365 nm).....	21
<b>Figura 13.</b> Placa cromatográfica en fase normal eluída en una proporción 95-5% diclorometano-metanol, revelada con detección de flavonoides y luz UV de onda larga (365 nm). ....	21
<b>Figura 14.</b> Placa cromatográfica en fase normal eluída en una proporción 70-30% <i>n</i> -hexano-acetona, revelada con 4-hidroxibenzoaldehido revelador terpenos. ....	22

<b>Figura 15.</b> Placa cromatográfica en fase normal eluída en una proporción 95-5% diclorometano-metanol, revelada con 4-hidroxibenzoaldehído revelador terpenos. .....	22
<b>Figura 16.</b> Placa cromatográfica en fase normal eluída en una proporción 70-30% <i>n</i> -hexano-acetona, revelada con Sulfato cérico amoniacal revelador terpenos. ...	22
<b>Figura 17.</b> Placa cromatográfica en fase normal eluída en una proporción 95-5% diclorometano-metanol, revelada con Sulfato cérico amoniacal revelador terpenos. .....	22
<b>Figura 18.</b> Placa cromatográfica, fase reversa, eluída en una proporción 70:30 H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> CN. Luz UV de onda larga (365 nm).....	24
<b>Figura 19.</b> Placa cromatográfica, fase reversa, eluida en una proporción 70:30 H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> CN. Luz UV de onda larga (365 nm), revelada con detección de flavonoides ...	24
<b>Figura 20.</b> Placa cromatográfica, fase reversa, eluida en una proporción 70-30% H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> CN. Luz natural, revelada con detección de flavonoides. ....	24
<b>Figura 21.</b> Placa cromatográfica, fase reversa, eluida en una proporción 70-30% H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> CN. Luz UV de onda larga (365 nm), revelada con detección de flavonoides .....	24
<b>Figura 22.</b> Placa cromatográfica, fase reversa, eluida en una proporción 60-40%. H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> CN Luz UV de onda larga (365 nm). revelada con detección de flavonoides. .....	25
<b>Figura 23.</b> Placa cromatográfica, fase reversa, eluida en una proporción 60-40% H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> CN. Luz UV de onda larga (365 nm). revelada con detección de flavonoides.....	25
<b>Figura 24.</b> Ratones CD-1.....	26
<b>Figura 25.</b> Registro del peso de los ratones.....	29
<b>Figura 26.</b> Administración del extracto.....	29
<b>Figura 27.</b> Registro de parámetros.....	29

<b>Figura. 28.</b> Resultados de la evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto MmEA mediante el método de difusión en posos de agar. ....	30
<b>Figura 29.</b> Frecuencia de convulsiones tónicas en el modelo de convulsiones inducidas con PTZ. Los datos representan la media $\pm$ desviación estándar de cada grupo. $n=6$ . Veh= vehículo, DZP= diacepam (1.0 mg/kg, i.p.), MmEA= extracto acetónico de <i>Malpighia mexicana</i> (50, 100, 150, 200, 250 mg/kg, v.o.) * $p<0.05$ , ** $p<0.001$ vs el grupo control. Los análisis se realizaron con un ANOVA de una vía y una prueba post hoc de Tukey.....	32
<b>Figura 30.</b> Frecuencia de convulsiones clónicas en el modelo de convulsiones inducidas con PTZ ( <i>i.p.</i> ). Los datos representan la media $\pm$ desviación estándar de cada grupo. $n=6$ . Control= vehículo, DZP= diacepam, MmEA= extracto acetónico de <i>Malpighia mexicana</i> (50, 100, 150, 200, 250 mg/kg, v.o.) * $p<0.05$ , ** $p<0.01$ vs el grupo control. Los análisis se realizaron con un ANOVA de una vía y una prueba <i>Post hoc</i> de Tukey.....	33
<b>Figura 31.</b> Frecuencia de convulsiones tónico-clónicas en el modelo de convulsiones inducidas con PTZ ( <i>i.p.</i> ). Los datos representan la media $\pm$ desviación estándar de cada grupo. $n=6$ . Control= vehículo, DZP= diacepam, MmEA= extracto acetónico de <i>Malpighia mexicana</i> (50, 100, 150, 200, 250 mg/kg, v.o.) * $p<0.05$ , ** $p<0.01$ vs el grupo control. Los análisis se realizaron con un ANOVA de una vía y una prueba <i>post hoc</i> de Tukey.....	34
<b>Figura 32.</b> Cromatogramas de HPLC .....	35

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Fraccionamiento químico de MmEA .....	20
<b>Tabla 2.</b> Fraccionamiento químico de MmR8 .....	23
<b>Tabla 3:</b> dosis y concentración de los diferentes grupos.....	29
<b>Tabla 4.</b> Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto MmEA.....	31
<b>Tabla 5.</b> Efecto anticonvulsivante del extracto acetónico de <i>Ma CCF Ipighia mexicana</i> (MmEA) sobre las convulsiones inducidas con PTZ en ratones CD-1..	31

## ABREVIATURAS

°C	Grados Celsius
μl	Microlitro
AEM	Asociación Española de Micología
BDMTM	Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana
CCF	Cromatografía en capa fina
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Diclorometano
CH <sub>3</sub> CN	Acetonitrilo
CIByC	Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación
CICY	Centro de Investigación Científica de Yucatán
Cm	Centímetros
CMI	Concentración mínima inhibitoria
Col	Colonia
DE	Desviación estándar
DMT	N, N-Dimetiltriptamina
DZP	Diazepam
EE. UU	Estados Unidos
Fig.	Figura
G	Gramos
H	Horas
HPLC	Cromatografía líquida de alto rendimiento
HUMO	Herbario del Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos
Hz	Hertz unidad de frecuencia
<i>i.p.</i>	Vía intraperitoneal
Kg	Kilogramos
L	Litros
M	Metros

MeOH	Metanol
mg	Miligramos
mg/Kg	Miligramo por Kilogramo
Min	Minutos
ml	Mililitro
Mm	Milímetro
MmC2F1	Sub-fracción del extracto de <i>M. mexicana</i> columna dos, fracción 1
MmEA	Extracto Acetónico
MmR	Sub-fracción del extracto de <i>Malpighia mexicana</i>
msnm	Metros sobre el nivel del mar
N	Número
NCCDPHP	Centro Nacional para la Prevención de Enfermedades Crónicas y
NE	No evaluado
Nm	nano mol
NOM	Norma Oficial Mexicana
NP-PEG	2 amino etil difenil borinato
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
PTZ	pentilentetrazol
REBIOSH	Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla
SNC	Sistema nervioso central
TFA	Ácido trifluoroacético
THH	Tetrahidroharmina
TLC	Cromatografía en capa fina
UFC	Unidad Formadora de Colonias
UV	Radiación ultravioleta
v.o	vía oral
Veh	Vehículo

## RESUMEN

En los últimos años uno de los principales problemas a nivel mundial es la resistencia de cepas bacterianas a múltiples antibióticos los cuales son los principales fármacos para tratar estas enfermedades, esto es un problema de salud pública debido al uso excesivo de los antimicrobianos en padecimientos en los cuales no aporta ningún beneficio, por lo tanto, las bacterias han desarrollado resistencia a distintos antimicrobianos esto los hace cada vez más ineficientes, haciendo más difícil el tratar estas infecciones y por consecuencia haciendo que aumente la mortalidad. Por otra parte, las enfermedades del sistema nervioso afectan alrededor de 450 millones de personas en el mundo, tal es el caso, de la epilepsia que afecta a 50 millones de personas en el mundo haciéndola uno de los trastornos neurológicos más comunes en todo el mundo. Las plantas medicinales son una alternativa para tratar estas enfermedades ya que muchas son capaces de producir múltiples compuestos químicos con efecto antimicrobiano y anticonvulsivo. debido a esto, es prioritaria la búsqueda de sustancias de origen natural que presenten estos efectos. Las plantas de la familia Malpighiaceae han presentado efectos antimicrobianos, anticonvulsivante, sedante, ansiolítico, y antidepresivo. Tal es el caso de *Malpighia mexicana* que presentó efectos ansiolítico y sedante los cuales son efectos depresores del sistema nervioso. El objetivo de este proyecto fue determinar la actividad antimicrobiana mediante el método de Concentración mínima inhibitoria y actividad anticonvulsivante por el modelo de Convulsiones inducidas con pentilentetrazol (metrazol). Las hojas de *Malpighia mexicana* se maceraron para la obtención del extracto acetónico de (MmEA) el cual presentó actividad anticonvulsivante el modelo de convulsiones inducidas con pentilentetrazol. Las dosis evaluadas del extracto de MmEA (50, 100, 150, 200, 250 mg/kg) protegieron a los ratones de la muerte en el modelo de convulsiones inducidas con pentilentetrazol, siendo la dosis de 200 mg/kg la que presentó el mejor efecto con una protección de 83.34% además de que todas las dosis del extracto MmEA disminuyeron la frecuencia de convulsiones clónicas siendo las dosis con mejor efecto de 50 y 100 mg/kg. Cuatro compuestos fueron determinados en MmEA

por HPLC, los cuales son: rutinósido de quercetina, glucósido de kaempferol, glucósido de luteolina y el flavonol quercetina. Por otra parte, el extracto de MmEA no fue capaz de inhibir el crecimiento de las bacterias ni de la levadura.

## 1. INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS), menciona que es un objetivo prioritario la búsqueda de sustancias de origen natural que presenten efectos antimicrobianos, ya que en años recientes ha ido en aumento la identificación de cepas bacterianas resistentes a diversos antibióticos (OMS, 2020). Esta resistencia es un problema de salud pública debido al uso excesivo de los antimicrobianos en trastornos en los que no aportan ningún tipo de beneficio. A lo largo de los años la mayoría de las especies patógenas han desarrollado resistencia a distintos antimicrobianos entre los microorganismos más preocupantes por sus resistentes están bacterias como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, que han mostrado resistencia a los antibióticos así también como las infecciones fúngicas causadas por hongos como *Candida albicans*, (OMS, 2021). Como consecuencia a esta farmacoresistencia los antibióticos y otros medicamentos antimicrobianos se vuelven ineficaces debido a esto las infecciones son cada vez más difíciles de tratar. Por otro lado, la OMS publicó que las enfermedades mentales son de los padecimientos más discapacitantes y que alrededor de 450 millones de personas en el mundo padecen de algún tipo de trastorno del sistema nervioso como la epilepsia, que es una enfermedad cerebral crónica que afecta a más de 50 millones de personas en el mundo (WHO, 2011). Las plantas medicinales podrían ser una alternativa para tratar enfermedades causadas por los microorganismos ya que contienen compuestos químicos que presentan efecto antimicrobiano. En la literatura etnomédica se reporta el uso de *Malpighia mexicana* (Malpighiaceae) en el estado de Morelos para tratar el empacho, diarreas, disentería y también se usa para desinfectar heridas (BDMTM, 2009). Además, se demostró que el extracto metanólico de las partes aéreas de *Malpighia mexicana* A. Juss. (Malpighiaceae) presentó efectos ansiolítico y sedante (Díaz, 2021), los cuales son efectos depresores del sistema nervioso además existen múltiples reportes de que *Galphimia glauca*, una planta perteneciente a la misma familia Malpighiaceae tiene compuestos químicos responsables de efectos depresores del sistema nervioso como ansiolítico, antidepresivo, anticonvulsivante y sedante (Tortoriello y Lozoya, 1992; Herrera-Ruiz *et al.*, 2006). Huerta-Reyes *et al.*, (2013) reportaron que un extracto metanólico de

las partes aéreas de *Heteropterys brachiata* (L.) DC (Malpighiaceae) muestra efecto antidepressivo, ansiolítico, y anticonvulsivante. Por lo tanto, el objetivo este trabajo fue evaluar el efecto antimicrobiano de un extracto acetónico de las partes aéreas de *Malphigia mexicana* A. Juss., así como evaluar el efecto anticonvulsivante en un modelo murino de convulsiones inducidas con pentilentetrazol.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 Infecciones bacterianas**

Existe una gran cantidad de microorganismos que no causan ningún tipo de infección, sin embargo, son solo algunas bacterias las que provocan algún tipo de enfermedad mediante la producción de toxinas, esto se produce ya que transmiten o invaden los tejidos de los organismos he ingresan las células de su hospedador o evaden el sistema inmunitario a estas bacterias se les conoce como bacterias patógenas (Merck, 2019). Las infecciones bacterianas son causadas por estas bacterias que son microorganismos microscópicos que presentan distintas formas y que carecen de núcleo viven en todo tipo de medios y ambientes, entre ellos el cuerpo humano y en el de los animales por ejemplo distintas especies habitan en la boca, en las vías respiratorias, en las fosas nasales y en la piel como es el caso de la bacteria *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* que se encuentra regular mente en los intestinos de los humanos y animales sanos (Torres, 2012).

#### **2.1.1 *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* es una bacteria grampositiva anaerobia facultativa pertenece al filo Firmicutes, es generalmente un patógeno oportunista, se agrupa en racimos tiene forma de coco y posee una alta tolerancia a la sal, es resistente a condiciones ambientales, por lo regular actúa como un microorganismo saprofito (Torres, 2012; Buchan, 2019). *Staphylococcus aureus* pertenece a una parte de la microbiota humana, coloniza principalmente las fosas nasales, la piel de aproximadamente el 30% de la población mundial. Además, puede causar variedad de infecciones como las pulmonares, cardíacas, sanguíneas y óseas, esta bacteria es uno de los microorganismos cuya resistencia es preocupante (OMS, 2021) ya

que generalmente son resistentes a los antibióticos. Por ejemplo, esta bacteria es resistente a la meticilina y posee una resistencia por una betalactamasa inducible que tiene la capacidad de resistencia ante la penicilina. Cuando bajan las defensas del organismo esta puede causar algún tipo de enfermedad, además se conoce que esta bacteria afecta aproximadamente a 2 millones de personas las cuales han sido colonizadas mundialmente (Bannerman, 2003 y Richardson; Libby y Fang, 2008).

### **2.1.2 *Escherichia coli***

*Escherichia coli* es un bacilo gramnegativo, móvil, anaerobio facultativo. Esta bacteria es una de las más estudiadas debido a que es uno de los microorganismos cuya resistencia es más preocupante, esta se encuentra por lo regular en los intestinos de los animales sanos, tiene la capacidad de colonizar varios sitios si las defensas del huésped están comprometidas (Torres, 2012), si la bacteria no obtiene componentes genéticos que codifiquen factores virulentos esta actúa como un comensal y forma parte de la flora intestinal ayudando a la absorción de los nutrientes. Es una de las principales causas de infecciones extraintestinales e intestinales como infecciones en el aparato excretor, peritonitis, septicemia, neumonía, mastitis, meningitis y cistitis. Es la bacteria más común en infecciones urinarias sobre todo en mujeres (Cruz, 2008).

### **2.1.3 Tratamiento de las infecciones bacterianas**

Durante los últimos años se han implementado nuevos tratamientos con gran potencial y especificidad para tratar las infecciones bacterianas, entre estos se incluyen los antibióticos que son los fármacos utilizados para tratar las infecciones causadas por las bacterias, estos actúan contra las bacterias matándolas o dificultando su desarrollo o reproducción esto sin provocar algún tipo de daño al huésped. Los agentes antibacterianos utilizan las diferencias estructurales y metabólicas de las células bacterianas para obtener la selectividad necesaria para lograr un buen tratamiento. Para seleccionar los antibióticos adecuados para el tratamiento de alguna infección se deben realizar diagnósticos específicos debido a que la relación de la bacteria con su cuadro clínico no es persistente por lo que es

importante identificar a estas bacterias. Además de que existe una amplia variedad de antibióticos para combatir a las enfermedades bacterianas como por ejemplo la penicilina, cefalosporinas, las fluoroquinolonas, los macrólidos, los aminoglucósidos, los carbapenémicos (Nafees, 2010; Merck, 2019).

#### **2.1.4 Resistencia antimicrobiana**

Los antimicrobianos son diferentes fármacos con efecto antibiótico, antiviral, antifúngico y antiparasitario, estos son utilizados para tratar las infecciones en los humanos y animales. La resistencia a los antimicrobianos surge cuando las bacterias, virus, hongos o parásitos presentan resistencia a los distintos antimicrobianos, esta resistencia aparece de forma natural con el pasar de los años. Generalmente ocurre por las modificaciones genéticas que sufren los organismos con el paso del tiempo (OMS, 2020), también se puede producir por el mal uso de los antimicrobianos, esto ocurre debido a que los microorganismos se ven expuestos a diferentes antimicrobianos (antibióticos, antifúngicos, antivíricos, entre otros). Esto amenaza la capacidad para tratar las enfermedades infecciosas comunes debido a esto los medicamentos pierden su efectividad, haciendo que las enfermedades sean más prolongadas puesto que es más difícil el tratar las infecciones, además, esto incrementa la propagación de enfermedades y por consecuencia aumenta la mortalidad y aumenta los costos de atención médica y de los medicamentos (OPS, 2020; OMS, 2020). La resistencia a los antimicrobianos está aumentando en todo el mundo, cada día aparecen nuevos mecanismos de resistencia, la falta de acceso a los antimicrobianos de calidad sigue siendo un gran problema y los escasos de estos medicamentos afecta a países de todos los niveles de desarrollo y al sistema de atención de salud (OMS, 2020).

#### **2.2 Infecciones fúngicas**

Las infecciones fúngicas, también conocidas como micóticas, son causadas por hongos, estos se encuentran en el aire, suelo, el agua y en el organismo de los seres vivos, las infecciones fúngicas afectan a más de mil millones de personas en

el mundo, esto ocasiona más de once millones y medio de infecciones graves y aproximadamente un millón y medio de muertes anuales (Cabañes, 2019).

### **2.2.1 *Candida albicans***

Es un hongo levaduriforme patógeno del ser humano, es uno de los microorganismos de los cuales su resistencia a los antimicrobianos es preocupante debido a que es causante de muchas infecciones (candidiasis) por ejemplo, en la piel, mucosas, cavidad oral, esófago, tracto gastrointestinal, vagina, en el sistema vascular. Se descubrió que secreta una toxina peptídica citolítica llamada candidalisina, que es la forma invasiva (hifa) de *C. albicans* al hospedero (Calderone y Fonzi, 2001; Naglik *et al.*, 2019).

### **2.2.2 Tratamiento de las infecciones fúngicas**

Los antifúngicos son los fármacos usados para tratar las infecciones causadas por hongos, en el mercado se encuentran disponibles distintas opciones farmacéuticas. Existen diferentes vías de administración, una muy recurrida es la tópica, aunque también se emplea vía oral, esto para casos de mayor gravedad o dependiendo su localización (uñas, pies, cabeza) o pueden inyectarse cuando son infecciones más graves. Para el caso de las infecciones sistémicas, el tratamiento va a variar dependiendo del hongo responsables y de los síntomas, generalmente se utilizan antifúngicos, sin embargo, debido a la composición y estructura química de los hongos hace que sean más difíciles de eliminar y generalmente requiere un tratamiento de varios meses o en algunos casos, en especial si el sistema inmunitario está comprometido, el tratamiento farmacológico no siempre resulta eficaz y puede que se tenga que realizar una intervención quirúrgica para extirpar la parte afectada (Sanjay, 2019).

## **2.3 Modelos de evaluación de la actividad antimicrobiana**

### **2.3.1 Método de difusión en pozos de agar**

El método de difusión en agar está apoyado por datos clínicos y de laboratorios; y presenta la ventaja que sus resultados son altamente reproducibles (Barry *et al.*,

1979). La técnica está basada en el método originalmente descrito por Bauer et al., 2009. Este método de difusión en disco o en pozo fue estandarizado y es actualmente recomendado por el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad de NCCLS, de Estados Unidos. El fundamento de esta determinación es establecer, en forma cuantitativa, el efecto de un conjunto de sustancias, ensayadas individualmente, sobre las cepas bacterianas (Comité de Antibiograma de la Sociedad Francesa de Microbiología, 1996; Comité Nacional de Laboratorio Clínico, 1997). El método se basa en la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado y sembrado homogéneamente con la bacteria a ensayar y sobre la cual se ha depositado un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro, o se ha sembrado en pozo impregnado con una cantidad conocida de la sustancia (Estándares Nacionales de Laboratorio Clínico, 1998; Hacek *et al.*, 1999).

### **2.3.2 Concentración mínima inhibitoria**

La técnica de concentración mínima inhibitoria (CMI) se utiliza para medir la sensibilidad *in vitro*, generalmente se utiliza la difusión en agar, este método tiene la capacidad para determinar de manera precisa la concentración del antibiótico necesaria para inhibir el crecimiento de algún patógeno en la muestra, las zonas que no presentan crecimiento bacteriano determinan si la prueba es sensible, resistente o si tiene respuesta intermedia al antibiótico utilizado. El valor de CMI es el valor más bajo (en µg/mL) del antibiótico que inhibe el crecimiento de una determinada bacteria, este valor de CMI es diferente para cada antibiótico. Esto es importante ya que nos puede ayudar a una adecuada elección de un antibiótico, lo que mejorará los resultados del tratamiento además de ayudar a frenar la resistencia a los antibióticos.

## **2.4 Epilepsia**

La epilepsia es una enfermedad cerebral crónica no trasmisible que afecta a personas de todas las edades, aunque es más frecuente en niños y adultos

mayores. La epilepsia es uno de los trastornos neurológicos más comunes debido a que afecta a 50 millones de personas en todo el mundo. Se caracteriza por convulsiones que son un breve cambio en la actividad normal del cerebro, estas son recurrentes y son episodios breves de movimientos involuntarios, estas crisis generalmente duran apenas unos segundos o minutos después el cerebro funciona con normalidad, estas puede involucrar una parte del cuerpo o todo, en ocasiones las personas con este trastorno pierden la conciencia y el control de la función intestinal. El riesgo de muerte prematura en personas con este trastorno es hasta tres veces mayor en toda la población (OMS 2020). Las convulsiones que sufren las personas con epilepsia se deben a las descargas eléctricas excesivas de grupos de células cerebrales, estas se producen en distintas partes del cerebro, las convulsiones pueden ser episodios muy cortos de la pérdida de conciencia o de contracciones musculares o hasta convulsiones prolongadas y graves estas pueden ocurrir desde una al año o varias al día.

## **2.5 Clasificación**

Las convulsiones se clasifican en dos grupos de crisis:

**Convulsiones generalizadas:** afectan ambos lados del cerebro, estas provocan pérdida de conocimiento.

**Convulsiones focales o parciales:** afectan solo a un área del cerebro es decir que la descarga comienza en una zona concreta y puede extenderse al resto de la corteza cerebral.

Las personas que tienen dicha enfermedad pueden tener los dos tipos de convulsiones, algunos síntomas temporales que puede causar la epilepsia son pérdida de conocimiento o conciencia y alteraciones del movimiento, el estado de ánimo u otras funciones cognitivas (Centro Nacional para la Prevención de Enfermedades Crónicas y Promoción de la Salud , 2018).

### **2.5.1 Tratamiento farmacológico de la epilepsia**

Entre los trastornos más comunes para tratar la epilepsia están los medicamentos o la cirugía.

**Medicamentos:** los medicamentos anticonvulsivantes ayudan a reducir el número de convulsiones en el cerebro dependiendo que tan frecuente sean, para esto, un médico cambia la cantidad del medicamento o de ser necesario deberá cambiar el medicamento, los medicamentos funcionan en dos de cada tres personas con epilepsia.

**Cirugía:** cuando las convulsiones son focales es decir que solo provienen de una parte del cerebro, una cirugía podría evitar convulsiones futuras o se puede hacer más fácil el controlarlas con los medicamentos. Estas cirugías son más comunes si el origen de la epilepsia proviene del lóbulo temporal del cerebro.

### **2.6 Modelos de evaluación de la actividad anticonvulsivante**

Uno de los métodos utilizados para la evaluación de la actividad anticonvulsivante es de inducción química, que provoca convulsiones con el fármaco pentilentetrazol, este es un estimulante del sistema nervioso central, es útil para evaluar convulsiones clónicas-tónicas, éstas son muy similares a las que sufren los humanos. Este método es ampliamente utilizado para la evaluación de la actividad anticonvulsivante para el uso de nuevas moléculas en vista que estos compuestos funcionen como antagonistas al pentilentetrazol. Este modelo es ampliamente utilizado en la investigación clínica y para el desarrollo de nuevos fármacos con actividad anticonvulsivante debido a su bajo costo y su fácil manejo (Ramos, 2012).

#### **2.6.1 Convulsiones inducidas con pentilentetrazol (metrazol)**

El pentilentetrazol es un fármaco que estimula el sistema nervioso central, este es utilizado como agente anticonvulsivante y se usa para provocar convulsiones. Sí es utilizado en dosis bajas de 20 mg/kg este va a producir crisis de ausencia, éstas se caracterizan por breves cambios del estado de conciencia, mientras que las dosis mayores a 50 mg/kg van a provocar crisis convulsivas de tipo clónico-tónico estas

son muy parecidas a las convulsiones que sufren los humanos. El pentilentetrazol ha sido utilizado en ratas y se ha demostrado que en dosis altas produce un patrón típico convulsivo, el cual consiste de movimientos faciales, cola erguida, seguido por espasmos musculares del cuello y tronco que posteriormente se van a propagar a las extremidades, y después perder la postura y se desencadena la fase clínica que es una serie de movimientos involuntarios bruscos, y más adelante sigue la crisis tónica que es una hiperextensión de las extremidades. Por esto, la administración del pentilentetrazol es considerada conveniente para estudiar de las crisis tónico-clónicas generalizadas (Velazco-Cercas 2022).

## **2.7 Antecedentes de la planta de estudio**

### **2.7.1 Género *Malpighia***

El género *Malpighia* (Malpighiaceae) abarca arboles pequeños o arbustos de 6 a 10 m de alto, las hojas son ovadas, glabras y la base es redonda y acuneada y generalmente son de color oscuro brillante tiene inflorescencia axilar no ramificadas con 30 a 50 flores, estos presentan glándulas en tres de los sépalos, su fruto es carnoso a manera de baya color rojo o naranja (Avilés, 2016). Este género incluye cerca de 50 especies de árboles y arbustos nativos de América tropical y subtropical, en México se distribuyen 19 especies de las cuales 12 son endémicas, entre estas esta *Malpighia mexicana* A. Juss. comúnmente conocida como nanche rojo, o guachocote. Existen muy pocos estudios anatómicos foliares para este género y especial mente para la especie *M. mexicana*, aunque ha sido reportada como sinónimo de *M. glabra* y de *M. puniceifolia*, antes llamada *M. emarginata*.

### **2.7.2 *Malpighia mexicana* A. Juss.**

#### **Descripción botánica**

*Malpighia mexicana* A. Juss. o comúnmente conocido como guachocote (Fig. 1) es un árbol perteneciente a la familia Malpighiaceae, es originario del sur de México, América central y de la zona septentrional de Sudamérica es de clima cálido y tropicales de bosque tropical caducifolio resistente a la sequía, en México se emplea

como ornamental y medicinal, es un árbol que mide de 8 a 9 metros de altura de corteza gruesa y sus hojas son lisas de color verde, miden de 3 a 16 cm de largo y de 2 a 8 cm de ancho, son gruesas y ovaladas con vena media sobresaliente (Bárcenas, 2019), cuando sus flores están tiernas son como unas pequeñas bolitas rojas y al abrirse son de color amarillo con un poco de rojo, generalmente se encuentran en racimos sus frutos son globosos de color verde y al madurar se vuelven de color rojo y tienen un alto contenido de ácido ascórbico (Maldonado, 2016). En la literatura entomédica se reporta el uso de *Malpighia mexicana* A. Juss. (Malpighiaceae) en Morelos para la diarrea, disentería y desinfectar heridas y en el estado de Oaxaca utilizan su corteza para desinfectar las heridas (BDMTM, 2009). Se ha demostrado que un extracto metanólico de las hojas de *Malpighia mexicana* presentó efectos ansiolíticos y sedante (Díaz, 2021), los cuales son efectos depresores del sistema nervioso.



**Figura 1.** *Malpighia mexicana*.

### **2.7.3 Descripción botánica y taxonómica**

La clasificación taxonómica de acuerdo con la base de datos del Jardín Botánico de Missouri (2016) es la siguiente:

Reino: Plantae  
Filo: Tracheophyta  
Clase: Magnoliopsida  
Orden: Malpighiales  
Familia: Malpighiaceae  
Género: *Malpighia*  
Especie: *mexicana*  
Nombre científico: *Malpighia mexicana* A. Juss.

#### **2.7.4 Ubicación geográfica**

La familia Malpighiaceae está ampliamente distribuida por los trópicos y subtrópicos, comprende de 60 a 65 géneros, en México se tiene el registro de 23 géneros y 150 especies, estas se distribuyen en los bosques tropicales caducifolios y en bosques mesófilos de montañas y en vegetación secundaria y en matorrales; la especie *Malpighia mexicana* A. Juss. se distribuye principalmente en los estados de Guerrero, Jalisco, Morelos, Oaxaca, Puebla, Zacatecas y Costa Rica (León, 2014).

#### **2.7.5 Usos etnomédicos**

*Malpighia mexicana* A. Juss. es conocida principalmente en Morelos por sus diversos usos, esta planta es utilizada para tratar la diarrea el empacho y la difteria, en el estado de Oaxaca es utilizada su corteza para desinfectar heridas esta es hervida con sal y se remoja la herida con un lienzo limpio con el agua caliente (BDMTM 2009).

#### **2.7.6 Farmacología y fitoquímica**

De diferentes especies de la familia Malpighiaceae se han logrado obtener diferentes extractos vegetales los cuales han identificado compuestos químicos tales como los alcaloides, antocianinas, flavonoides, terpenos entre otros. También las especies de esta familia botánica son conocidas por tener propiedades sobre el sistema nervioso central (SNC) debido a su contenido de alcaloides como N, N-

Dimetiltriptamina (DMT), Tetrahydroharmina (THH), harmalina y harmina como la especie *Banisteriopsis caapi*, igualmente algunas especies del género *Heteropteris* por ejemplo *H. glabra* tiene propiedades ansiolíticas y sedantes; la especie *H. tomentosa* demostró un efecto positivo sobre la memoria en ratas de edad avanzada. *Byrsonima intermedia* tiene actividad antibacteriana, esta presenta actividad frente a bacterias como *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, y *Staphylococcus aureus*, también presentan efecto antidiarreico y antiinflamatorio que se atribuyen a la presencia de proantocianidinas oligoméricas y flavonoides para el género *Malpighia*. La especie *Malpighia emerginata* tienen efecto antioxidante, además se demostró que un extracto salino de *M. emerginata* inhibió 90% de la capacidad de crecimiento de *Candida albicans*, *Candida krusei* y *Candida tropicalis*, este extracto presentó actividad antifúngica contra levaduras como *C. albicans* y *C. parapsilosis*, en comparación con las otras especies (Bárbara, 2019; Villanueva, 2020).

### 3. JUSTIFICACIÓN

En años recientes ha ido en aumento la aparición de cepas bacterianas resistentes a múltiples antibióticos, los cuales son los principales fármacos para combatirlas, debido a esto, es un tema prioritario la búsqueda de compuestos con efecto antimicrobiano (WHO, 2011). Hoy en día, con la aparición de patógenos farmacorresistentes, han aparecido nuevos mecanismos de resistencia a los antimicrobianos en todo el mundo, por lo cual los antibióticos son cada vez más ineficientes, esto hace más difícil de tratar las infecciones y por consecuencia aumenta la mortalidad de las personas (OMS, 2021). La OMS maneja datos importantes para las enfermedades del sistema nervioso, alrededor de 450 millones de personas en todo el mundo padecen algún tipo de padecimiento mental; la epilepsia afecta a la población en general, aproximadamente a 50 millones de personas en el mundo, lo que la convierte en uno de los trastornos neurológicos más comunes, además el costo del tratamiento y la pérdida de productividad para la sociedad también es asombroso (WHO, 2011). Muchas especies de la familia Malpighiaceae han demostrado experimentalmente

tener efecto sedante, ansiolítico, antidepresivo, nootrópico, anticonvulsivante y antimicrobiano, por lo que, *Malpighia mexicana* A . Juss. es una especie candidata para la búsqueda de compuestos con efecto antimicrobiano y anticonvulsivante; se comprobó que un extracto metanólico de *Malpighia mexicana* A . Juss. tiene efecto ansiolítico y sedante (Díaz, D, 2021), los cuales son efectos depresores del sistema nervioso. Esta planta se encuentra en la Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla (REBIOSH) y sus pobladores han hecho uso de ellas para padecimientos relacionados con los “nervios” o para el “susto” y para curar heridas. De tal manera que el presente trabajo de investigación pretende aportar conocimientos acerca de los posibles efectos anticonvulsivantes del extracto acetónico de *Malpighia mexicana* A . Juss. en un modelo *in vivo* en ratón, además de determinar su actividad antimicrobiana en un bioensayo con cepas de bacterias y una levadura.

#### **4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿El extracto de acetona aislado de *Malpighia mexicana* A . Juss. tendrá un efecto antimicrobiano y/o anticonvulsivante en modelos *in vitro* e *in vivo*?

#### **5. HIPÓTESIS**

El extracto acetónico de las hojas de *Malpighia mexicana* A . Juss. presenta efecto antimicrobiano y/o anticonvulsivante.

#### **6. OBJETIVOS**

##### **6.1 Objetivo general**

- Evaluar los efectos antimicrobiano y anticonvulsivante de un extracto de acetona de las hojas de *Malpighia mexicana* A . Juss.

##### **6.2 Objetivos particulares**

- Obtener un extracto de acetona de las hojas de *Malpighia mexicana* A . Juss.

- Evaluar efecto antimicrobiano del extracto de acetona obtenido de las hojas de *Malpighia mexicana* A . Juss. contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, y *Candida albicans*, en un bioensayo *in vitro*.
- Medir el halo de inhibición presentado por el extracto de acetona obtenido de las hojas de *Malpighia mexicana* A . Juss. contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aerus*, y *Candida albicans*.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto de acetona obtenido de las hojas de *Malpighia mexicana* A . Juss. contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, y *Candida albicans*, en bioensayos de laboratorio.
- Evaluar el efecto anticonvulsivante de un extracto de acetona obtenido de las hojas de *Malpighia mexicana* A . Juss. en un modelo de convulsiones inducidas con pentilentetrazol.
- Fraccionar por cromatografía el extracto.
- Determinar el grupo de productos naturales presentes en el extracto, mediante técnicas cromatográficas.

## 7. MATERIAL Y MÉTODOS

### 7.1 General

Pentilentetrazol (PTZ) y diazepam (DZP), utilizados para la evaluación anticonvulsivante, fueron comprados en Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) y Cryopharma S.A. de C. V. (Guadalajara, Jal, México) respectivamente. El extracto orgánico integro, así como las subfracciones, se separaron y analizaron mediante la aplicación de métodos cromatográficos tradicionales como la cromatografía en columna y la cromatografía en capa fina (TLC). Las placas cromatográficas y la sílice gel 60 (0.063-0.200 mm) fueron adquiridas de Merck KGaA (Darmstadt, Germany) al igual que el *n*-hexano, acetona y metanol. Los reveladores utilizados fueron 4-hidroxibenzaldehído (Komarovsky) y sulfato sérico para detectar terpenos, además se utilizó 2 amino etil difenil borinato (NP-PEG) para la determinación de flavonoides, posteriormente se observaron en una lampara compacta de Luz ultravioleta 95-021-12 (115v) Uvp Uvgl-25 254/365 nm donde se marcaron las

bandas de compuestos. Para la detección de grupos de compuesto, se llevó a cabo un análisis de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) del extracto integro en un equipo Waters 2695, equipado con un detector de matriz de fotodiodos Waters 2996.

## 7.2 Colecta e identificación de la especie vegetal

Las hojas de *Malpighia mexicana* A . Juss. fueron recolectadas en el estado de Morelos en el municipio de Xochitepec, en la 3a. Privada de Agustín pro-S/N, Col. San Francisco, Chiconcuac, en septiembre del 2021, latitud N 18°47'3.9766" longitud W 99°11'42.193" Altitud: 1171 msnm (Fig. 2). La identificación de la planta fue autenticada por el M. en C. Gabriel Flores experto en el campo de la taxonomía vegetal de Plantas. Un ejemplar fue depositado como referencia en el herbario (HUMO) del Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIByC) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, con número 35164.



**Figura 2:** Colecta de las hojas de *Malpighia mexicana*.

## 7.3 Obtención del extracto

El material vegetal (2.5 kg de hoja fresca), se secó en condiciones de sombra y a temperatura ambiente. Una vez seco, se trituró en un molino manual (Fig. 3), obteniendo 1.9 kg de material. El material vegetal se extrajo sucesivamente 3 veces con acetona (100%), el volumen de extracción utilizado es de 1.6 L de disolvente por 300 g de material vegetal (Fig. 4). El extracto líquido se secó, eliminando el

disolvente por destilación a presión reducida por medio de un rota evaporador marca BUCHI 215 (Fig. 5). El excedente de disolvente del extracto fue evaporado temperatura ambiente, obteniéndose 13 g de extracto seco, se congeló a  $-18^{\circ}\text{C}$ , para posteriormente ser utilizado en los experimentos farmacológicos, el extracto obtenido de acetona fue nombrado MmEA.



**Figura 3.** Molienda de la planta seca



**Figura 4.** Maceración de la especie



**Figura 5.** Destilación de la planta

#### 7.4 Cromatografía en capa fina.

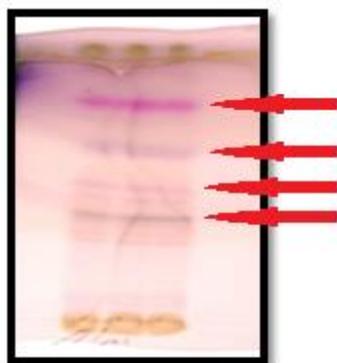
El extracto MmEA fue analizado por cromatografía en capa fina, las placas se revelaron con 2- aminoetil difenil borinato (NP-PEG) y 4-hidroxibenzaldehído (Komarovsky) para la detección de productos naturales del tipo flavonoide y terpenoide respectivamente (Fig. 6).



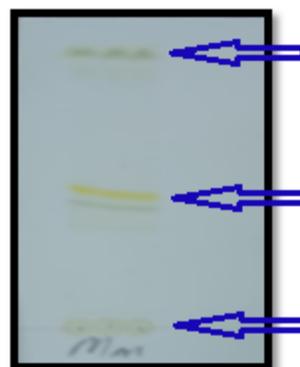
**Figura 6.** Reveladores 2-aminoetil difenil borinato (NP-PEG) y 4-hidroxibenzaldehído (Komarovsky).

La Fig. 7 muestra que el perfil fitoquímico de esta especie revelada con reactivo Komarovsky, la cual mostró la presencia de compuestos del grupo de los terpenos.

La Fig. 8 muestra un perfil fitoquímico de esta planta revelada con NP-PEG, reactivo para detectar la presencia de flavonoides.



**Figura 7:** Cromatografía en capa fina fase normal, Komarovsky, 95:5 MeOH- CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Presencia de terpenos (  )



**Figura 8:** Placa cromatográfica en fase normal, 95:5 MeOH- CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Presencia de flavonoides (  )

## 7.5 Fraccionamiento Químico

El MmEA (8 g), fue fraccionado en una columna cromatográfica previamente empacada con 40 g de sílice gel 60. Se utilizó un sistema de gradiente *n*-hexano-acetona como fase móvil, iniciando con el 100% del disolvente de menor polaridad, posteriormente se eluyó con gradientes de *n*-hexano-acetona de 95:5% - 90:10% - 85:15% hasta llegar a 50:50% de *n*-hexano-acetona y posteriormente con 70:30% de acetona-*n*-hexano, 100% acetona y por último se lavó con 100% metanol, dando como resultado 14 fracciones de 100 mL cada una (Fig. 9), las cuales se concentraron en un sistema de destilación a presión reducida con ayuda de un rota evaporador BUCHI 215, posteriormente se analizaron en cromatografía en capa fina, las cuales fueron agrupadas dependiendo de sus patrones similares en su composición química, obteniendo así 8 sub-fracciones (Tabla 1).

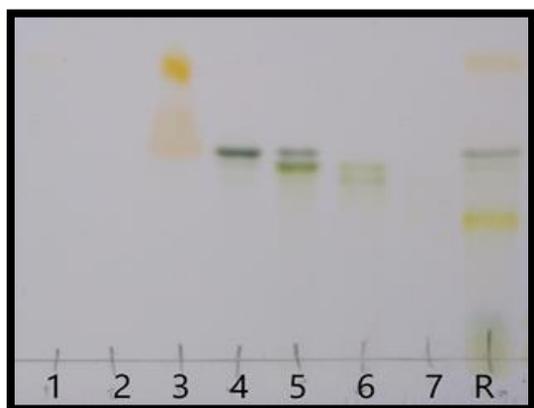


**Figura 9.** Columna cromatográfica abierta

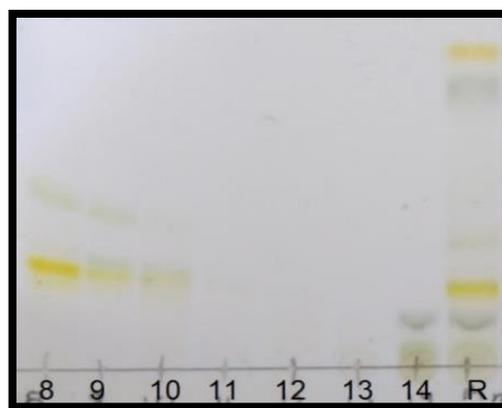
**Tabla 1.** Fraccionamiento químico de MmEA

Polaridad del sistema	Fracciones	Sub-fracción	Clave	Cantidad
<i>n</i> -hexano-acetona (90-10)	3	1-.3	MmR1	1.87
<i>n</i> -hexano-acetona (85-15)	4	2-.4	MmR2	0.52
<i>n</i> -hexano-acetona (80-20)	5	3-. 5	MmR3	0.38
<i>n</i> -hexano-acetona (75-25)	6	4-. 6	MmR4	0.14
<i>n</i> -hexano-acetona (70-30)	7	5-. 7	MmR5	0.19
<i>n</i> -hexano-acetona (65-35) (60-40) (55-45)	8,9,10	6-. 8,9,10	MmR6	0.41
<i>n</i> -hexano-acetona (50-50) (70-30) Acetona (100%)	11,12,13	7-. 11,12,13	MmR7	0.45
Metanol (100%)	14	8-. 14	MmR8	2.5

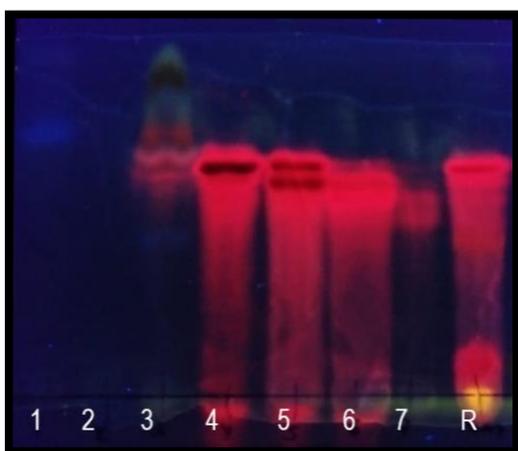
Las 14 fracciones fueron analizadas mediante cromatografía en capa fina, fase normal las cuales fueron reveladas con reactivo NP-PEG y Komarovsky, además de sulfato cérico amoniacal (Fig. 10-17).



**Figura 10.** Placa cromatográfica en fase normal, sistema 70:30 *n*-hexano-acetona, luz visible.



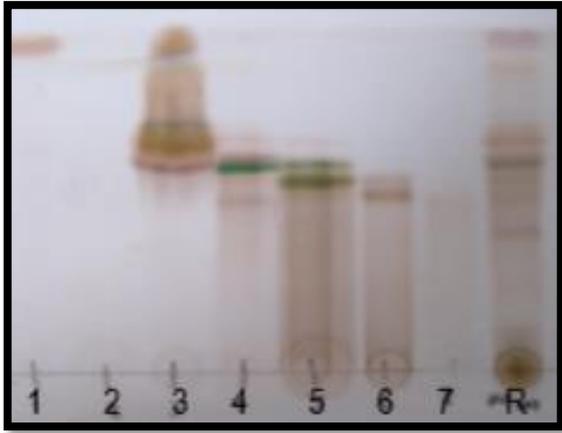
**Figura 11.** Placa cromatográfica en fase normal, eluída en una proporción 95:5 diclorometano-metanol, luz visible.



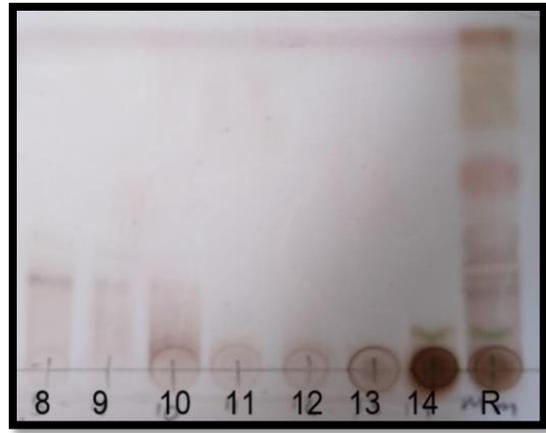
**Figura 12.** Placa cromatográfica en fase normal eluída en una proporción 70:30 *n*-hexano-acetona, revelada con detección de flavonoides y luz UV de onda larga (365 nm).



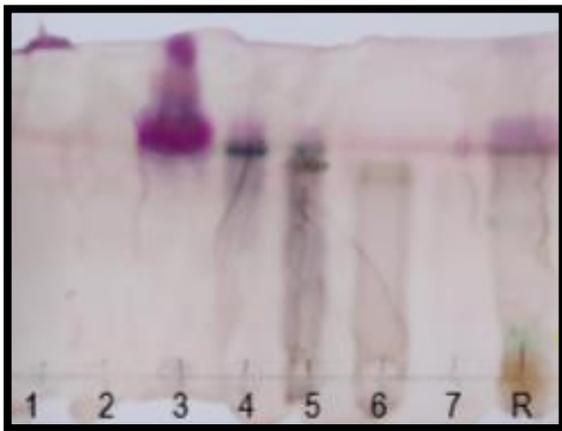
**Figura 13.** Placa cromatográfica en fase normal eluída en una proporción 95:5 diclorometano-metanol, revelada con detección de flavonoides y luz UV de onda larga (365 nm).



**Figura 14.** Placa cromatográfica en fase normal eluída en una proporción 70:30 *n*-hexano-acetona, revelada con 4-hidroxibenzoaldehído revelador terpenos.



**Figura 15.** Placa cromatográfica en fase normal eluída en una proporción 95:5 diclorometano-metanol, revelada con 4-hidroxibenzoaldehído revelador terpenos.



**Figura 16.** Placa cromatográfica en fase normal eluída en una proporción 70:30 *n*-hexano-acetona, revelada con Sulfato cérico amoniacal revelador terpenos.



**Figura 17.** Placa cromatográfica en fase normal eluída en una proporción 95:5 diclorometano-metanol, revelada con Sulfato cérico amoniacal revelador terpenos.

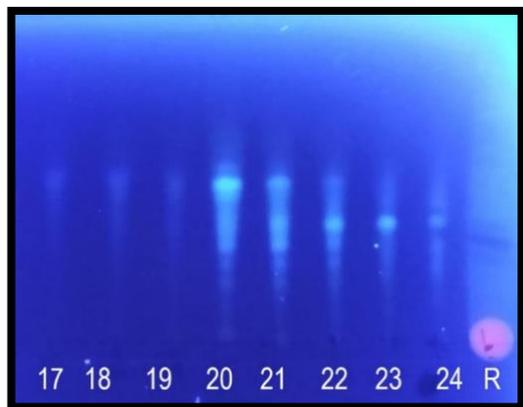
## 7.6 Fraccionamiento químico de la fracción MmR8

La fracción MmR8 (1 g) se absorbió en 1 g de sílice fase normal y en 1 g de sílice fase reversa, fue separada en una columna cromatográfica abierta empacada con 11 g de sílice fase reversa RP-18, iniciando con un sistema de gradiente de H<sub>2</sub>O-acetonitrilo como fase móvil, iniciando con 100% de agua y posteriormente con gradientes de 95:5% - 90:10% - 85:15% hasta llegar a 50:50% de H<sub>2</sub>O-acetonitrilo, por último se lavó con 100% metanol dando como resultado 43 fracciones de 10 mL, las cuales posteriormente fueron analizadas mediante cromatografía en capa fina y fueron agrupadas dependiendo de la similitud en sus patrones en su composición química obteniendo así 9 sub-fracciones (Tabla 2).

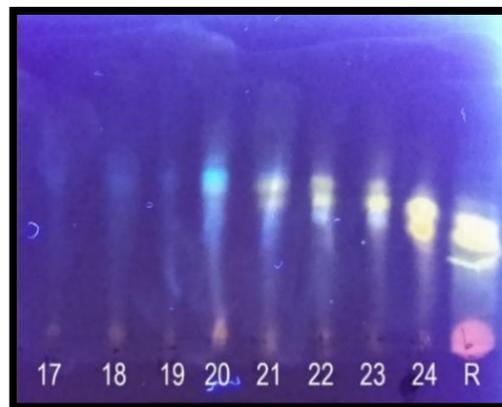
**Tabla 2.** Fraccionamiento químico de MmR8

Polaridad del sistema	Fracciones	Sub-fracción	Clave
H <sub>2</sub> O (100%)	1-5	1-	MmC2F1
H <sub>2</sub> O-acetonitrilo (95-5)	6-14	2-	MmC2F2
H <sub>2</sub> O-acetonitrilo (90-10)	15-17	3-	MmC2F3
H <sub>2</sub> O-acetonitrilo (85-15)	18-23	4-	MmC2F4
H <sub>2</sub> O-acetonitrilo (80-20)	24-27	5-	MmC2F5
H <sub>2</sub> O-acetonitrilo (70-30)	28-32	6-	MmC2F6
H <sub>2</sub> O-acetonitrilo (60-40)	33-36	7-	MmC2F7
H <sub>2</sub> O-acetonitrilo (50-50)	37-42	8-	MmC2F8
Metanol (100%)	43	9-	MmC2F9

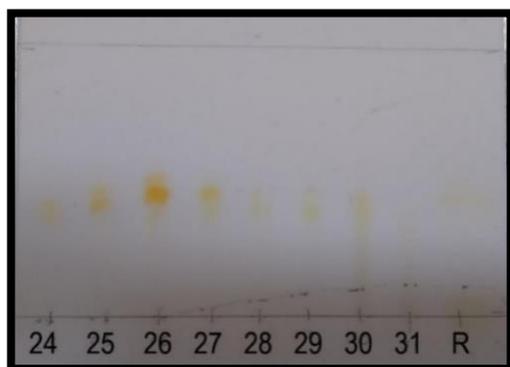
Las fracciones fueron analizadas mediante cromatografía en capa fina, fase reversa donde fue posible observar mediante rayos UV la separación de los compuestos presentes en dicho extracto, las cuales fueron analizadas con revelador de flavonoides y terpenoides, en el fraccionamiento de este extracto se pudo observar la separación a partir de la fracción 20, antes de esta subfracción no fue posible observar ningún compuesto (Fig. 18 a 23).



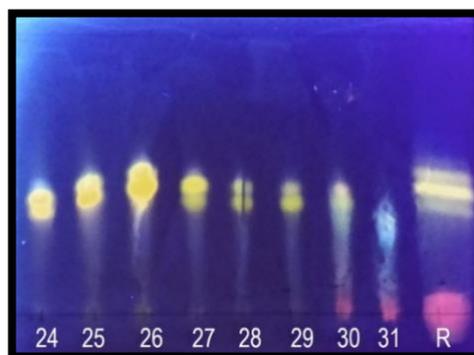
**Figura 18.** Placa cromatográfica, fase reversa, eluída en una proporción 70:30 H<sub>2</sub>O-CH<sub>3</sub>CN. Luz UV de onda larga (365 nm).



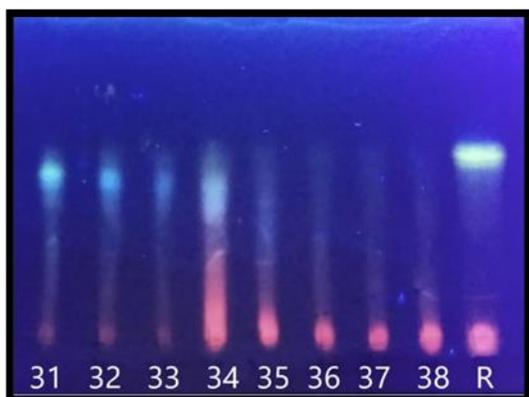
**Figura 19.** Placa cromatográfica, fase reversa, eluída en una proporción 70:30 H<sub>2</sub>O-CH<sub>3</sub>CN. Luz UV de onda larga (365 nm), revelada con detección de flavonoides.



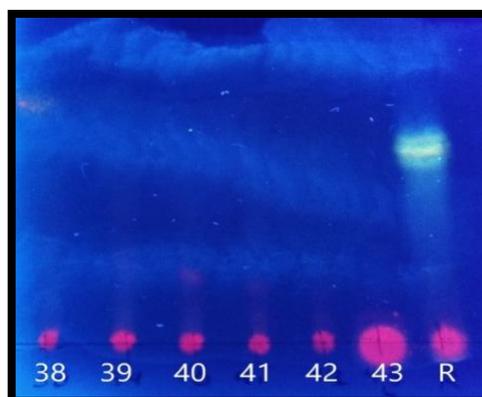
**Figura 20.** Placa cromatográfica, fase reversa, eluída en una proporción 70:30 H<sub>2</sub>O-CH<sub>3</sub>CN. Luz natural, revelada con detección de flavonoides



**Figura 21.** Placa cromatográfica, fase reversa, eluída en una proporción 70:30 H<sub>2</sub>O-CH<sub>3</sub>CN. Luz UV de onda larga (365 nm), revelada con detección de flavonoides.



**Figura 22.** Placa cromatográfica, fase reversa, eluida en una proporción 60:40 H<sub>2</sub>O-CH<sub>3</sub>CN Luz UV de onda larga (365 nm). revelada con detección de flavonoides.



**Figura 23.** Placa cromatográfica, fase reversa, eluida en una proporción 60:40 H<sub>2</sub>O-CH<sub>3</sub>CN. Luz UV de onda larga (365 nm). revelada con detección de flavonoides.

## 7.7 Análisis de HPLC

El análisis cromatográfico se realizó con un sistema HPLC (Delta Prep 4000, Waters, Milford, MA, EE. UU.) equipado con un módulo de separación Waters 2695, un detector de matriz de fotodiodos (Waters 996) y el software Pro Empower (Waters), para la separación química, se conectó una columna Supelcosil LC-F de fase inversa (250 mm x 4 mm, tamaño de partícula de 5 µm) (Merck, Darmstadt, Alemania) a una columna de guarda. Como fase móvil se utilizó agua acidificada con 0.5% de TFA (disolvente A) y acetonitrilo (disolvente B). El sistema de gradiente fue el siguiente 0-1 min, 0% de B; 2-3 min, 5% de B, 4-20 min, 30% de B; 21-23 min, 50% de B 14-15 min; 24-25 min, 80% de B; 26-27 100% de B; 28-30 min, 0% de B. El volumen de inyección de la muestra fue de 10 µL y el caudal se mantuvo en 0.9 mL min<sup>-1</sup>. La absorbancia se midió a 257.4 nm para determinar al rutinósido de quercetina, glucósido de kaempferol, glucósido de luteolina, y el flavonol quercetina, los cuales se identificaron por comparación con los datos de los compuestos estándar registrados en una base de datos de nuestro grupo de trabajo.

## 7.8 Animales de experimentación

El experimento con animales se realizó en estricto apego a los requerimientos oficiales del reglamento mexicano para el cuidado de los animales de experimentación (NOM-062-ZOO-1999), y los 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. El protocolo experimental fue aprobado por el comité institucional de investigación y ética (número de registro 2007-1701-8). Para el ensayo anticonvulsivante se utilizaron grupos de 6 ratones de la especie *Mus musculus* la cepa DC-1, de 25-30 g cada uno (Fig. 24). Los animales se alojaron en jaulas transparentes de plexiglás y se mantuvieron en condiciones regulares de laboratorio (25 ±2° C, ciclo de luz-oscuridad de 12 horas) libre acceso a agua y alimento estándar para roedores (formulab diet 5008). Todos los animales fueron aclimatados durante 3 semanas antes de iniciar el ensayo. Los experimentos se llevaron a cabo en el laboratorio del Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIBYC-UAEM). Cada animal se utilizó una vez en el experimento.



**Figura 24.** Ratones *Mus musculus* cepa CD-1

### **7.9 Microorganismos de experimentación**

Los microorganismos empleados fueron el bacilo gramnegativo *Escherichia coli*, los cocos grampositivos *Staphylococcus aureus*, y el hongo levaduriforme *Candida albicans*.

## **7.10 Modelos de ensayos**

### **7.10.1 Evaluación de la actividad antimicrobiana**

### **7.10.2 Microorganismos utilizados**

Los microorganismos empleados fueron: una bacteria gramnegativa: *Escherichia coli*, una bacteria grampositiva: *Staphylococcus aureus*, y una levadura: *Candida albicans*.

### **7.10.3 Fármacos de referencia**

Se utilizaron gentamicina y nistatina como controles positivos de actividad antimicrobiana.

### **7.10.4 Medios de cultivo**

Las cepas liofilizadas se replicaron en tubos de agar inclinado con Agar Nutritivo (bacterias) y Agar Dextrosa Sabouraud (levadura) y se incubaron por 24 horas a  $35 \pm 2^\circ \text{C}$  excepto la levadura que se incubó a  $29 \pm 2^\circ \text{C}$  por 48 horas. Para preparar el inóculo se cultivaron en el medio Infusión Cerebro Corazón. Para las pruebas de actividad antimicrobiana según el método de difusión en pozos de agar en: Agar para Métodos Estándar (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*), Agar Dextrosa Sabouraud (*Candida albicans*). Todos los medios se prepararon y trataron según las instrucciones del fabricante (MCD LAB).

### **7.10.5 Preparación del inóculo**

1 UFC de cada microorganismo se inoculó en el medio Infusión Cerebro Corazón durante 48 h a  $35 \pm 2^\circ \text{C}$ . Posteriormente se realizaron diluciones seriadas hasta  $10^{-5}$ .

## **7.11 Método modificado de difusión en pozos de agar**

Se prepararon los medios Agar para Métodos Estándar para inocular *E. coli* y *S. aureus* y agar dextrosa Sabouraud para inocular *C. albicans*. Se hizo el frotis del inóculo sobre cada una de las superficies de los agares estipulados para este método. Posteriormente, se hicieron los pozos sobre la superficie de los agares con

ayuda de un sacabocados estéril de 6 mm de diámetro, en el fondo de cada pozo se colocó un disco de papel filtro estéril de 6 mm (Whatman No. 42) y en cada uno de los pozos se vertieron 25 µL de cada concentración correspondiente de los extractos por triplicado. Las concentraciones empleadas del extracto fueron 0.125, 0.25, 0.50, 1, 2, 4, 8, 16 y 32 mg/mL. Se dejó reposar por 30 minutos. Las placas se incubaron a  $35 \pm 2^\circ$  C por 48 horas. Posteriormente, se midieron los halos de inhibición incluyendo el diámetro de los discos.

### **7.12 Convulsiones inducidas con pentilentetrazol (metrazol)**

Los grupos experimentales que recibieron el extracto MmEA fueron administrados vía oral con ayuda de una cánula esofágica (Tabla 3), (50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg *v.o.*,  $n=6$ ) en un esquema de administración 24, 18 y 1 h previas a la experimentación (Fig. 25-26), el grupo control positivo que recibió el diazepam fue administrado vía intraperitoneal 30 min previos a la experimentación (1 mg/kg, *i.p.*, control positivo,  $n=6$ ), el grupo que recibió el vehículo (agua) fue administrado vía oral 24, 18 y 1 h previas a la experimentación (vehículo, *v.o.*, grupo control,  $n=6$ ), El fármaco empleado para inducir las convulsiones en los roedores fue pentilentetrazol (100 mg/kg, *i.p.*), tras su administración los ratones se colocaron en cajas de plexiglás transparentes separados y se observó de forma individual la aparición de convulsiones durante un periodo de 30 minutos, se registró la latencia de las convulsiones (el tiempo que transcurre desde la administración de pentilentetrazol hasta que aparece la primera convulsión), la protección contra la mortalidad (porcentaje de muerte en 30 min) y el número de convulsiones (Fig. 27):

- a) Número de convulsiones tónicas. Estas se caracterizan porque los músculos del cuerpo se ponen rígidos.
- b) Número de convulsiones clónicas. estas se caracterizan por sacudidas rítmicas de las extremidades.
- c) Número de convulsiones tónico-clónicas. ha este tipo de convulsiones se les conoce como el gran mal debido a que son más agresivas y provocan rigidez y espasmos musculares (Villeneuve, 2002).



**Figura 25.** Registro del peso de los ratones.



**Figura 26.** Administración del extracto.



**Figura 27.** Registro de parámetros.

**Tabla 3:** dosis y concentración de los diferentes grupos.

Grupo	Dosis	Concentración
1	(50 mg/kg)	[10 mg/mL]
2	(100 mg/kg)	[10 mg/mL]
3	(150 mg/kg)	[15 mg/mL]
4	(200 mg/kg)	[15 mg/mL]
5	(250 mg/kg)	[20 mg/mL]

### 7.13 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se expresaron como la media  $\pm$  desviación estándar (DEM), los datos fueron analizados usando un análisis de varianza de una sola vía (one way-ANOVA) y una post-prueba Tukey con un nivel de significancia de  $p < 0.05$ . El software estadístico empleado fue Jamovi Stats 2.3.18 (Sydney, Australia).

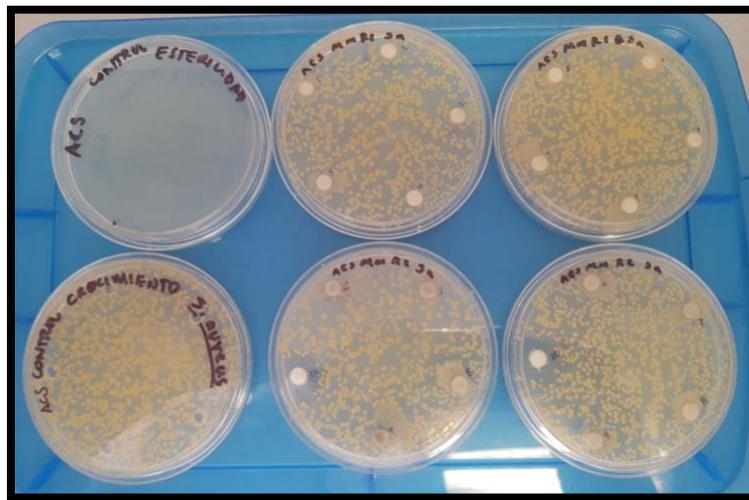
## 8. RESULTADOS

### 8.1 Rendimiento del extracto *Malpighia mexicana*

Un extracto de acetona fue obtenido de las hojas de *M. mexicana* (MmEA), el rendimiento obtenido fue de 4.33%. Dicho extracto mostró actividad anticonvulsivante.

### 8.2 Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto MmEA

Las diferentes concentraciones evaluadas de MmEA presentaron nula inhibición del crecimiento de los microorganismos evaluados (Fig. 28), solamente fue posible medir los halos de inhibición de las sustancias control, gentamicina (10 µg) y nistatina [0.2 mg/mL] (Tabla 4). No se pudo determinar la concentración mínima inhibitoria.



**Fig. 28** Resultados de la evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto MmEA mediante el método de difusión en posos de agar.

**Tabla 4.** Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto MmEA

Tratamientos (Concentración)	Inhibición	Halo de inhibición (mm)*		
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
Control	0	--	--	--
Gentamicina (µg) 10	1	19 ± 1	20 ± 1	NE
Nistatina [mg/mL] 0.2	1	NE	NE	22 ± 1
0.125	0	--	--	--
0.250	0	--	--	--
0.500	0	--	--	--
Extracto MmEA [mg/mL] 1	0	--	--	--
2	0	--	--	--
4	0	--	--	--
8	0	--	--	--
16	0	--	--	--
32	0	--	--	--

0= crecimiento bacteriano, 1= inhibición del crecimiento microbiano, NE= no evaluado, --= no presentó, \* = se presenta la media ± la desviación estándar

### 8.3 Actividad anticonvulsivante del extracto acetónico de *Malpighia mexicana*

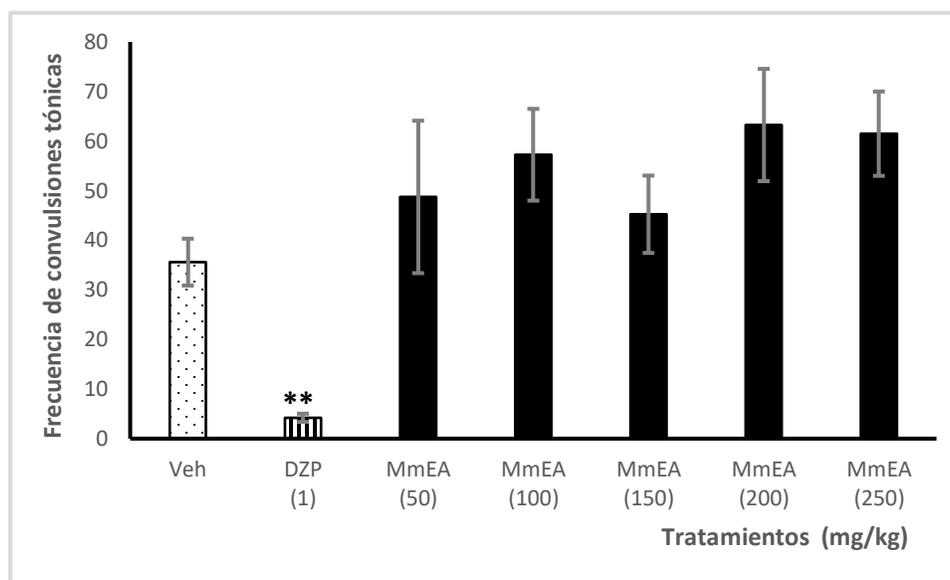
Todas las dosis del MmEA presentaron una protección contra la mortalidad en diferentes porcentajes, destacando la dosis de 200 mg/kg la cual protegió en un 83.34% de la mortalidad (Tabla 5). Ninguna de las dosis evaluadas del MmEA (50, 100, 150, 200, 250 mg/kg) mostró una modificación del parámetro de latencia de las convulsiones al compararlo con el vehículo (Tabla 5).

**Tabla 5.** Efecto anticonvulsivante del extracto acetónico de *Malpighia mexicana* (MmEA) sobre las convulsiones inducidas con PTZ en ratones CD-1.

Tratamientos (mg/kg)	Latencia (s) (media ± DE)	Protección contra la mortalidad (%)
Veh (100 µg/10 g)	54.00 ± 6.22	0.00
DZP (1.0)	131.75 ± 7.68 **	100.00 **
MmEA (50)	55.00 ± 2.83	50.00 *
MmEA (100)	54.50 ± 3.39	66.66 *
MmEA (150)	49.60 ± 5.55	33.33 *
MmEA (200)	53.20 ± 5.45	83.34 **
MmEA (250)	52.50 ± 6.45	50.00 *

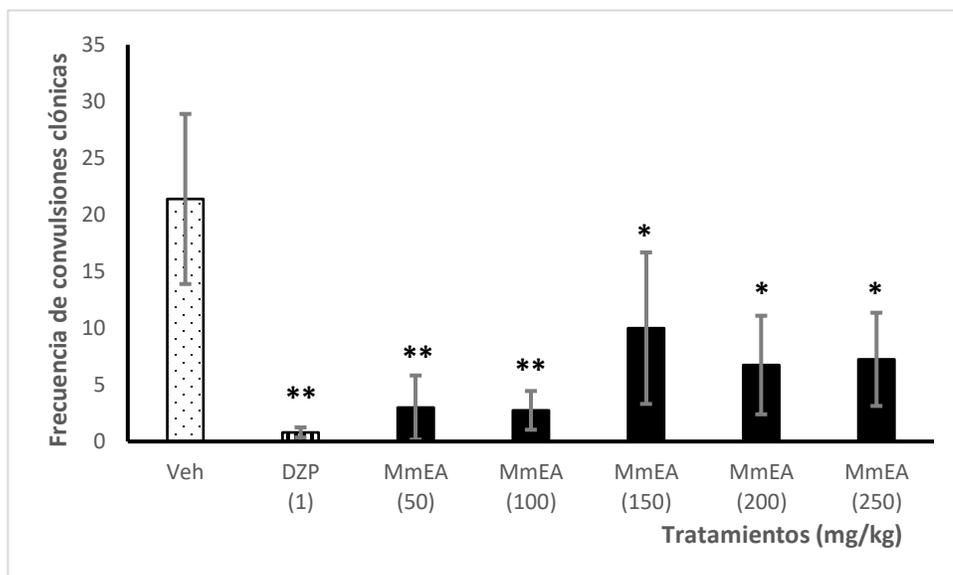
Los datos se presentan como la media ± desviación estándar con  $n=6$ . \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.001$  comparado con el vehículo usando un ANOVA y una prueba *post hoc* de Tukey. Veh, vehículo; DZP, diazepam; MmEA, extracto acetónico de *Malpighia mexicana*.

La frecuencia de convulsiones tónicas de las dosis evaluadas del MmEA (50, 100, 150, 200, 250 mg/kg) no presentaron una diferencia significativa en comparación al vehículo (Fig. 29). El grupo del control positivo (DZP 1 mg/kg, *i.p.*) indujo una frecuencia de 4 convulsiones y es estadísticamente diferente del vehículo (\*\* $p < 0.001$ ).



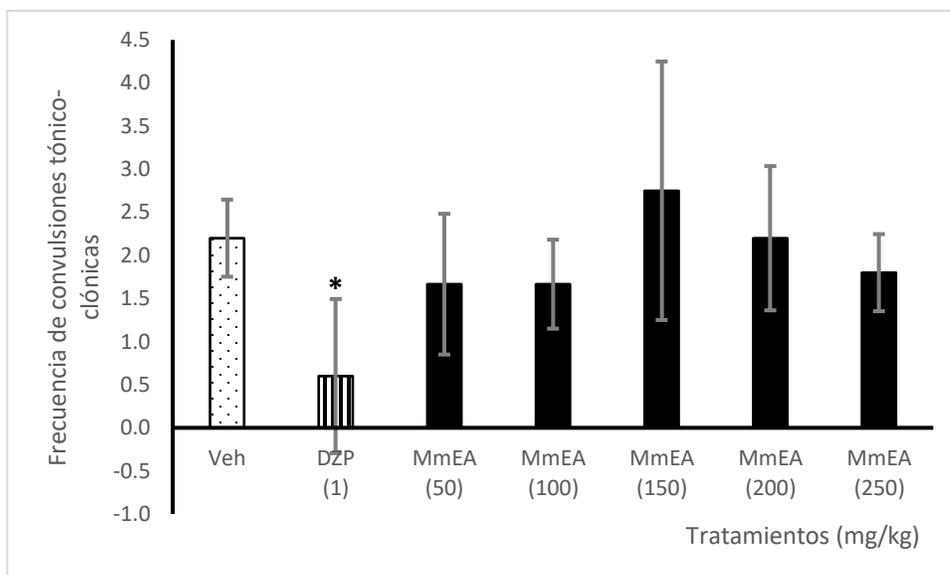
**Figura 29.** Frecuencia de convulsiones tónicas en el modelo de convulsiones inducidas con PTZ. Los datos representan la media  $\pm$  desviación estándar de cada grupo.  $n=6$ . Veh= vehículo, DZP= diazepam (1.0 mg/kg, *i.p.*), MmEA= extracto acetónico de *Malpighia mexicana* (50, 100, 150, 200, 250 mg/kg, *v.o*) \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$  vs el grupo control. Los análisis se realizaron con un ANOVA de una vía y una prueba post hoc de Tukey.

La frecuencia de convulsiones clónicas disminuyó con todas las dosis evaluadas del extracto MmEA (50, 100, 150, 200, 250 mg/kg) y tuvieron un resultado estadísticamente significativo al compararlo con el grupo control. En este parámetro se destaca que las dosis más bajas (50 y 100 mg/kg) tuvieron un nivel de significancias de  $p < 0.001$  (Fig. 30).



**Figura 30.** Frecuencia de convulsiones clónicas en el modelo de convulsiones inducidas con PTZ (i.p.). Los datos representan la media  $\pm$  desviación estándar de cada grupo. n=6. Control= vehículo, DZP= diazepam, MmEA= extracto acetónico de *Malpighia mexicana* (50, 100, 150, 200, 250 mg/kg, v.o) \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  vs el grupo control. Los análisis se realizaron con un ANOVA de una vía y una prueba *Post hoc* de Tukey.

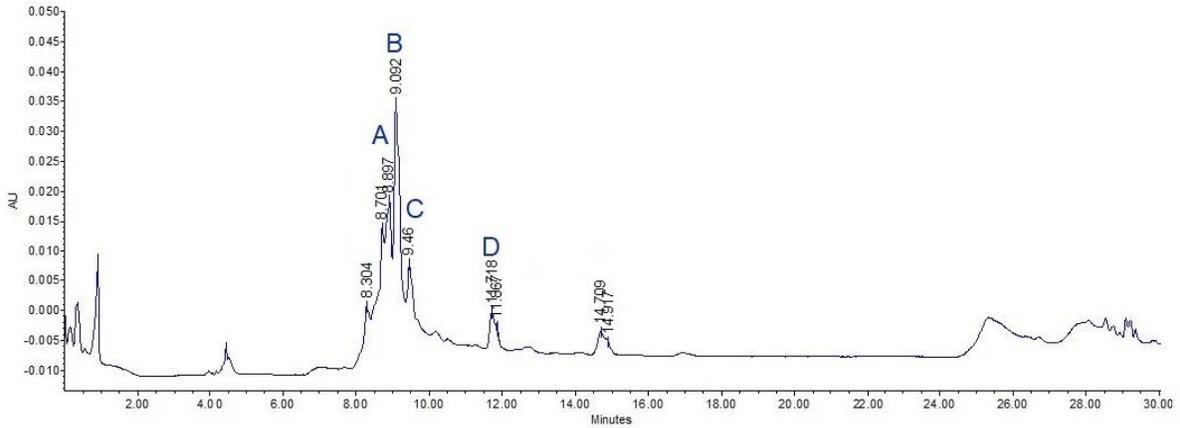
Las diferentes dosis evaluadas del MmEA (50, 100, 150, 200, 250 mg/kg) no modificaron significativamente el parámetro de convulsiones tónico-clónicas al compararlo con el vehículo. El grupo de diazepam (1 mg/kg) disminuyó significativamente este parámetro al compararlo con el grupo del vehículo (Fig. 31).



**Figura 31.** Frecuencia de convulsiones tónico-clónicas en el modelo de convulsiones inducidas con PTZ (i.p.). Los datos representan la media  $\pm$  desviación estándar de cada grupo. n=6. Control= vehículo, DZP= diazepam, MmEA= extracto acetónico de *Malpighia mexicana* (50, 100, 150, 200, 250 mg/kg, v.o.) \* $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  vs el grupo control. Los análisis se realizaron con un ANOVA de una vía y una prueba *post hoc* de Tukey.

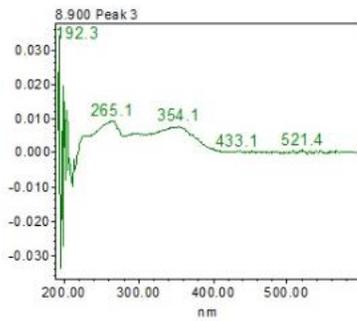
#### 8.4 Análisis de HPLC

El cromatograma de HPLC de MmEA, se muestra en la Fig. 32. El tiempo de retención y los espectros UV del extracto de acetona de las hojas de *Malpighia mexicana*, mostraron la presencia de flavonoides, en primera instancia se logró determinar al rutinósido de quercetina (pico A) debido al tiempo de retención de 8.897 min y un espectro de UV de  $\lambda_{nm} = 265.1, 354.1, 433.1$  y  $521.4$ ; al glucósido de kaempferol (pico B), con un tiempo de retención de 9.092 min y un espectro de UV de  $\lambda_{nm} = 263.9, 351.7, 460.8$  y  $516.5$ ; al glucósido de luteolina (pico C) con un tiempo de retención de 9.467 min y un espectro de UV de  $\lambda_{nm} = 265.1, 344.6, 439.1$  y  $526.3$  y el flavonol quercetina (pico D), debido al tiempo de retención de 11.718 min y un espectro de UV de  $\lambda_{nm} = 256.7, 369.4, 471.7$  y  $522.6$ . Todos los metabolitos secundarios de este extracto vegetal se identificaron por comparación con los datos de los compuestos estándar registrados en una base de datos de nuestro grupo de trabajo.



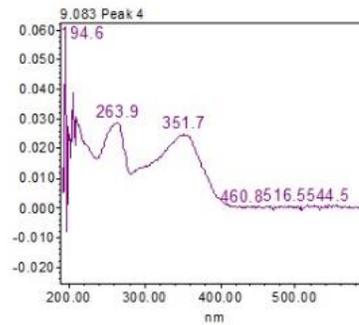
**Figura 32.** Cromatogramas de HPLC correspondientes al extracto de acetona de hojas de *Malpighia mexicana* (MmEA). Mostrando la presencia de compuestos del tipo flavonoide, rutinósido de quercetina (pico A), glucósido de Kaempferol (pico B), glucósido de luteolina (picos C), flavonol quercetina (pico D).

**A**



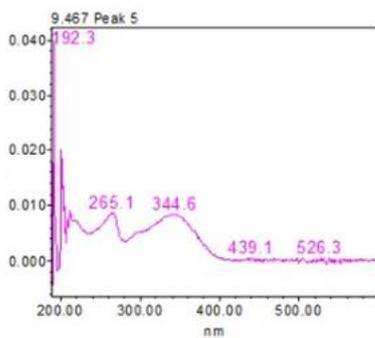
rutinósido de quercetina

**B**



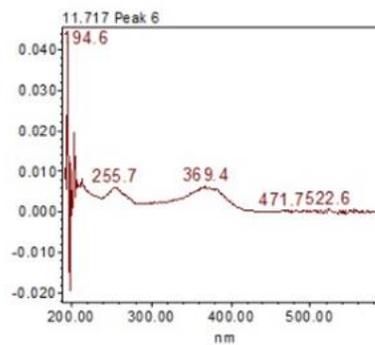
glucósido de kaempferol

**C**



glucósido de luteolina

**D**



flavonol quercetina

## 9. DISCUSIÓN

Antecedentes en medicina tradicional mexicana informan que *M. mexicana* es utilizada por los pobladores de la REBIOSH para calmar los nervios (Dorado, 2005), Díaz-Jiménez, 2021 encontró que el extracto metanólico de las hojas de esta planta tienen un efecto ansiolítico en el modelo de laberinto elevado en forma de cruz sin modificar la actividad motora espontánea y producen un efecto hipnótico en el modelo de potenciación del estado hipnótico de pentobarbital, sin embargo, previo a este trabajo no había sido evaluado el potencial anticonvulsivante de *Malpighia mexicana*. A pesar de que ya se habían evidenciado efectos depresores de la actividad del sistema nervioso central. En el presente trabajo el extracto MmEA mostró tener un efecto anticonvulsivante en el modelo de convulsiones inducidas con el pentilentetrazol, este modelo se emplea ampliamente en la búsqueda de fármacos anticonvulsivos con un alto valor predictivo para la detección de fármacos efectivos a nivel clínico (Galani y Patel, 2011). Otras plantas de la misma familia han sido reportadas por presentar el efecto anticonvulsivante, tal es el caso de un extracto metanólico de *Galphimia glauca* (Malpighiaceae,) que presentó un efecto hipotérmico, hipnótico y anticonvulsivante (Tortoriello y Lozoya, 1992). El resultado obtenido en el presente trabajo es similar al reportado con el extracto metanólico de *Hepteropterys brachiata* (L.) DC., la cual, también es una planta de la familia Malpighiaceae, en el mencionado estudio se evidenció que la planta posee efecto antidepressivo, efecto ansiolítico y efecto anticonvulsivante, los compuestos identificados y que son los principales responsables de ese efecto farmacológico son el ácido clorogénico, ácido clorogénico metil éster y se encontraron dos terpenos los cuales no pudieron ser identificados (Huerta-Reyes et al, 2013). Al comparar el parámetro de protección contra la mortalidad de los ratones en la prueba de convulsiones inducidas con pentilentetrazol la dosis con mejor efecto en el estudio con *H. brachiata* fue la de 500 mg/kg mientras que, en el presente trabajo, la dosis con mayor protección contra la mortalidad (83.34%) fue la de 200 mg/kg. Los compuestos presentes en el MmEA con actividad anticonvulsivante que fueron identificados por medio de un análisis de HPLC son: rutinósido de quercetina, glucósido de kaempferol, glucósido de luteolína, y quercetina, dichos compuestos

pertenecen a los flavonoides del grupo de los flavonoles y flavonoles glicosilados (Cartaya y Reynaldo, 2001). Nieoczym et al., 2014 evaluaron la actividad anticonvulsivante de la rutina y quercetina en varios modelos *in vivo*, encontraron que la rutina y quercetina tienen un efecto anticonvulsivante dosis dependiente en el modelo de convulsiones psicomotoras además de que incrementaron el umbral de convulsiones inducidas a 6 Hz. En un trabajo se reportó que la quercetina (100 mg/kg) fue capaz de disminuir el número de convulsiones en el modelo de convulsiones inducidas con ácido kaínico (Wu et al., 2020).

Por otro lado, en el presente trabajo no se evidenció que las concentraciones evaluadas tuvieran un efecto antimicrobiano contra *E. coli*, *S. aureus* y *C. albicans* en el método de difusión con agar. Por lo que, no fue posible determinar la concentración mínima inhibitoria de MmEA. Es probable que el efecto antimicrobiano pueda encontrarse en dosis más elevadas, o que inclusive los compuestos con actividad antimicrobiana puedan ser encontrados en extractos de una polaridad diferente como en el extracto metanólico.

## 10. CONCLUSIONES

- El extracto acetónico de hojas de *Malpighia mexicana* (MmEA) presentó actividad anticonvulsivante en el modelo de convulsiones inducidas con pentilentetrazol.
- Las diferentes dosis evaluadas del extracto MmEA (50, 100, 150, 200, 250 mg/kg) fueron capaces de proteger a los ratones de la muerte en el modelo de convulsiones inducidas con pentilentetrazol, siendo la dosis de 200 mg/kg la que presentó el mejor efecto con una protección de 83.34%.
- Todas las dosis evaluadas del extracto MmEA (50, 100, 150, 200, 250 mg/kg) fueron capaces de disminuir la frecuencia de convulsiones clónicas de forma estadísticamente significativa al compararlas con el vehículo. Las dosis con mejor efecto fueron las de 50 y 100 mg/kg.
- El extracto acetónico de hojas de *Malpighia mexicana* (MmEA) no fue capaz de inhibir el crecimiento de las bacterias ni de la levadura a las concentraciones propuestas.

## 11. PERSPECTIVAS

- Realizar la evaluación del perfil ansiolítico del extracto acetónico de hojas de *Malpighia mexicana*.
- Realizar la evaluación del perfil antidepresivo del extracto acetónico de hojas de *Malpighia mexicana*.
- Realizar la evaluación del perfil hipnótico del extracto acetónico de hojas de *Malpighia mexicana*.
- Realizar la evaluación de la modificación de la actividad motora espontánea del extracto acetónico de hojas de *Malpighia mexicana*.
- Realizar la identificación por RMN<sup>H1</sup> de alguno de los compuestos aislados en la columna cromatográfica del extracto acetónico de hojas de *Malpighia mexicana*.
- Realizar la evaluación antimicrobiana contra bacterias y levadura de los extractos de hexano o metanol de hojas de *Malpighia mexicana*.

## 12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Avilés G, (2016).** El género *Malpighia* en la porción mexicana de la península de Yucatán. herbario CICY 8:189-192.
- Barros Bárbara, Bruno Rafael, (2019).** Extracto salino de *Malpighia emarginata* las hojas de DC mostraron mayor presencia de polifenoles, actividad antioxidante y antifúngica y promovieron la proliferación celular en esplenocitos de ratones. Anaisda Academia Brasileira de Ciencias.
- BDMTM, (2009).** Ajuaxocotl. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana.
- Buchan K, Foster S & Renshaw, (2019).** *Staphylococcus aureus*: setting its sights on the human innate immune system. *Microbiology*, 165(4), 367-385.
- Cabañes J, (2019).** Esporotricosis en Brasil animales y humanos una sola salud. Asociación Española de Micología (AEM).
- Calderone R, & Fonzi, A, (2001).** Virulence factors of *Candida albicans*. **Trends in Microbiology**, 9(7), 327–335.
- Centro Nacional para la Prevención de Enfermedades Crónicas y Promoción de la Salud (NCCDPHP), (2018). Información básica sobre la epilepsia. Disponible en: <https://www.cdc.gov/epilepsy/spanish/basicos/preguntas-comunes.html> (12/04/2021).
- Centro para el control y la prevención de enfermedades, (2018). Epilepsia. disponible en: <https://www.cdc.gov/epilepsy/spanish/basicos/preguntas-comunes.html#:~:text=La%20epilepsia%2C%20en%20ocasiones%20conocida,principal%20signo%20de%20la%20epilepsia>. (19/02/2022).
- Díaz D, (2021).** Evaluación de la actividad sobre el sistema nervioso de extractos de *Malpighia mexicana* y *Ehretia tinifolia*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

- Farfán** García, Ariza Rojas, Vargas Cárdenas & Vargas Remolina L, (2016). Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. **Revista chilena de infectología**, 33(4), 438-450.
- Gilma** Nataly del Carmen, Torres Hernández, (2012). Espectro de inhibición de bacterias aisladas de muestras clínicas por cinco especies de plantas con actividad antimicrobiana. universidad de san Carlos de Guatemala facultad de ciencias químicas y farmacia.
- Herrera** Ruiz M, González Cortazar M, Jiménez Ferrer E, Zamilpa A, Álvarez L, Ramírez G, Tortoriello J, (2006). Anxiolytic effect of natural galphimines from *Galphimia glauca* and their chemical derivatives. *J Nat Prod*, 69: 59–61.
- Huerta** Reyes M, Herrera Ruiz M, González Cortazar M, Zamilpa A, León E, Reyes Chilpa R, Aguilar Rojas A, and Tortoriello J. (2013). Neuropharmacological *in vivo* effects and phytochemical profile of the extract from the aerial parts of *Heteropterys brachiata* (L.) DC. (Malpighiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**. 146(1): 311-317.
- Instituto Nacional De Salud Pública México, (2020). Disponible en: <https://www.insp.mx/lineas-de-investigacion/medicamentos-en-salud-publica/investigacion/resistencia-antimicrobiana.html> (25/03/2021).
- León** M, (2014). Flora de guerrero malpigiácea. Universidad Nacional Autónoma de México, (pág. 7 a 11). facultad de ciencias.
- López** Lorena Yeraldi, (2019). Anatomía foliar de *Malpighia mexicana* (Malpighiaceae) **Acta Botánica Mexicana**, 126: e1404.
- Maldonado** María de los Ángeles Peralta, Gabino García de los Santos, (2016). Calidad morfológica de frutos y endocarpios del nanche rojo (*Malpighia mexicana*, Malpighiaceae). **acta botánica mexicana**, 117: 37-4.
- Nafees** A, Lawrence C, George, James J, Plorde D, (2010). Naturaleza de la infección. En *Microbiología médica* (14). mexico,2015: Mc Graw Hill.

- Naglik R, Gaffen L & Hube B, (2019).** Candidalysin: discovery and function in *Candida albicans* infections. *Current Opinion in Microbiology*, 52, 100–109.
- OMS, (2019).** Epilepsia. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy> (12/04/2021).
- OMS, (2019).** La OMS destaca la escasez de tratamientos para la epilepsia en los países de ingresos bajos. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/20-06-2019-who-highlights-scarcity-of-treatment-for-epilepsy-in-low-income-countries> (12/04/2021).
- OMS, (2020).** Epilepsia. Disponible en: <https://www.who.int/topics/epilepsy/es/> (12/04/2021).
- OMS, (2020).** Resistencia a los antibióticos. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos> (12/04/2021).
- OMS, (2020).** Resistencia a los antimicrobianos. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance> (25/03/2021).
- OMS, (2021).** Farmacorresistencia. Disponible en: [https://www.who.int/drugresistance/AMR\\_Importance/es/](https://www.who.int/drugresistance/AMR_Importance/es/) (25/03/2021).
- OPS, (2020).** Resistencia a los antimicrobianos. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/resistencia-antimicrobianos> (14/04/2021).
- Ramírez S & Castaño M, (2009).** Metodologías para evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. **Scientia et Technica**, 15(42), 263-268.
- Ramos F, Correa B, Saavedra M, (2012).** Modelo PTZ un screening primario para el desarrollo de nuevas moléculas con actividad anticonvulsivante. **Archivos de neurociencias**, Vol. 17 (1) 45-48.

**Secretaría de Salud, (2016).** Epilepsia enfermedad que afecta a dos millones de personas en México. Recuperado de: <https://www.gob.mx/salud/prensa/epilepsia-enfermedad-que-afecta-a-dos-millones-de-personas-en-mexico-61670> (12/04/2021).

**Snjay G, (2019).** Introducción a las infecciones por hongos. Manual MSD.

**Tortoriello J & Lozoya X, (1992).** Effect of *Galphimia glauca* Methanolic Extract on Neuropharmacological Tests. *Planta Med*, 58(03), 234-236. doi: 10.1055/s-2006-961442.

**Valcárce Merck J, (2019).** Tratamiento de las infecciones bacterianas, MSD salud. <https://www.msdsalud.es/cuidar-en/infecciones/infecciones-bacterianas/tratamiento-infecciones-bacterianas.html#:~:text=Los%20antibi%C3%B3ticos%20son%20los%20f%C3%A1rmacos,contra%20virus%2C%20hongos%20ni%20par%C3%A1sitos> (19/05/2021).

**Villanueva Amador S, Sánchez Vargas O, Gaitán Cepeda A & Huerta Reyes M, (2020).** Antibacterial, Antifungal and Antiviral Properties of Malpighiaceae Family and Its Potential Impact for Oral Cavity Infectious Diseases. **Journal of Pharmaceutical Research International**, 139-152.

**Villeneuve N, (2002).** Epilepsia y convulsiones. EMC-**Tratado de medicina**. 6 (2), 1-5.

**WHO, (2021).** Importancia de la resistencia a los antimicrobianos para la salud pública. Organización mundial de la salud (OMS). [https://www.who.int/drugresistance/AMR\\_Importance/es/](https://www.who.int/drugresistance/AMR_Importance/es/) (25/03/2021).

**World Health Organization (WHO), (2011).** Mental health atlas. Disponible en: [http://www.who.int/mental\\_health/evidence/atlas/global\\_results.pdf](http://www.who.int/mental_health/evidence/atlas/global_results.pdf) (25-01-20).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

**DIRECCIÓN DE ESTUDIOS SUPERIORES**  
Escuela de Estudios Superiores del Jicarero

Dirección



El Jicarero, Jojutla, Morelos, 04 de mayo del 2023

**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. FRANCIELI ITZEL BATALLA MARTÍNEZ**, con la modalidad **Tesis Profesional por Etapas (Art. 26°)**, con el título del trabajo: **Evaluación del perfil antimicrobiano y del efecto anticonvulsivante del extracto acetónico de *Malpighia mexicana* A. Juss.**

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

VOTO A FAVOR: \_\_\_\_\_  \_\_\_\_\_

VOTO EN CONTRA: \_\_\_\_\_

NECESITA ARREGLAR O ELIMINAR ALGO: \_\_\_\_\_

COMENTARIOS: \_\_\_\_\_

**FIRMA**

**BIÓL. JOSÉ ERNESTO GASPAR DOMÍNGUEZ**

**M. EN M.M. ISaura QUINTANA PADILLA**

**DR. DANTE AVILÉS MONTES**

**DRA. OFELIA SOTELO CARO**

**ING. JORGE AURELIO MANZO ESPÍN**

**DRA. MA. DOLORES PÉREZ GARCÍA**

**BIÓL. CINTHIA LIZBETH SEGURA MÁRQUEZ**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



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

**CINTHIA LIZBETH SEGURA MARQUEZ | Fecha:2023-05-23 10:10:19 | Firmante**

fciHvMM3rhy37upmbW6A/FGZIp0NpqajxJDIlura/X7U7uUFIpnOoBHBKvBYcN0Sshd72BKILswoscQK0ZkC1xRq3h0Xn4BNnNmcZnJtkOAIslRaG7nK9ctgByWtYkUeWqYmXlAIGGRkdc6FxmLLzRf5Oo6mOoAbYDlug+5by8yGaDuCkxhZL1p2E832zC1J/lwkLjQYnaX1WUyAl9XhL6s+ZOOf/WfYnqpErO5ld9oxzRublGuKvIHMOaG8yQ+KE3XY3b5+roc4Qfsc6VhCmRiza15160InneDedFZHMmeFGMrNx2tHgHjP2QU8HRVwRVIPYfsamr1VufvoXgg==

**ISAURA QUINTANA PADILLA | Fecha:2023-05-23 11:50:55 | Firmante**

DTv7AxMOumCEb/gHN9futPDyVTvoe5QXkUbCvTW+TH/hjVldu9aymjn8NAu8m+JkrPT4i/8MOu6qwAsBqN8PSGIvYakrbR15l3ipdl77qQta1b+ziLJ4COOn/baj6XdV7RbGrlcT0NpnBJOglUzMG6NHScWbGbfKuiKmp7yJS3Rkt/1oQYWyGBJWENiG2D83Z9Eh00QYDX4rChBraMceVXGnl0IHVgTODZ5/vJ0p+r+y/yf4B/zq1z9vXlv5BN5kwD2mqwmrBNZBROBYae+esyRCGQDisBUKisFuChoyGwt+Hyttk4EG+YkOEkmY8TulsFfRn+UchzmieGfhX7A==

**JOSE ERNESTO GASPAS DOMINGUEZ | Fecha:2023-05-23 11:54:36 | Firmante**

X5vO5ujqMAeLrBn3VAsPgkQFwFuiAqVCzjdjKSkfFdGMaTqNVHEjKtoPWjey1Cx8wE1c6nfVQE0SpPMEJZOuqtXxiMeOcoy1pQQFJNiMBdmJAf6MQAnJ31nSPqO8V3zMS2jq8e2lfpN0xi7SyxSUwhSqbt42LQZp5kvU2ZewJ8YwvL7d0BRBBMrKILGBKNAC/PoN6rDhYxJKDPz0ouFUuzDem651Uem1jWpO+idZ++OopVoMF0i6gLLf4jELI7GTWIN85xreNzmTTcK4S7Eer3zrVfyZOTxINjvby7X/IP7llcDbYeh7BmXCbHvZfRm+v76nkpClaeJp4Qz1Jw==

**DANTE AVILES MONTES | Fecha:2023-05-23 13:04:23 | Firmante**

nzv7GipLJZZY+SbLm8o7P63SbYctNkjVD3+Z88kE11/oQoWlkGU6RYgAGE95v6v/vCSam6HbYp2Pxp35GaiPQIdC029dG2ZkZoxKXJ1LlIdCJo7n/Q2PyhbTRlodi4CJPiVfQkfZASSbybzYgX3o5XeCp/t0AcsIh9V0scJU4O3/ooqV6hBLF/HEfids84UCwKCa+UdyUMC6jDmiRbCcSeTIm7ds8CxBgelt6OrusBLHWeD++aiQumxa0L0j3rqT0H0CW0/mDwDmP8IhejasaDd+ruOP0wMtaVrpe2snFgy64uuqvxQQRCx9yqXXf+/qYIfece64gAQ3iJmMkj22g==

**MA. DOLORES PÉREZ GARCÍA | Fecha:2023-05-23 13:07:57 | Firmante**

ldpvnFV88nKggTvmUobscIKRomf/OaZhSw0dqeJY4Grpf3w+THRpZ6hznea6X3Z+yipEqGFdZKigKKTmXCga+SDWH8nzYR0Q9I5HZR6nCgcV0AxiJZb0KFWrtZ/OVKbRkuBzqcC6/JOUX59fcN1x6Sse83UTkKQCfSjZJwTbRR0V6eawX1+2zLVU6npJZb+PAQITHkili8w11Yqljev3+r4CqmbM5gs6vO/aQ0NzqQRvlkkmzbcyCw3jS6jZd82inK3o4Z7F3vsTWE8Yw1ZzfOsHanHRODFUwf3eLjgz+75SD2BzildD3Ga3d48zsh0z03fezdRyPXV+WETkZA==

**OFELIA SOTELO CARO | Fecha:2023-05-23 20:21:36 | Firmante**

lozdjnyHcFGjB+yQ9hfm6YYTYGPJyBieMZcmtoT4YmbhcP9zOXpRQG/oGleYfzKCuxzSUSbs/T3vtb9JkQpSBQYZWNq1gvCM6QoB/di+A+A61xLSD9ye0iZOS4RHhrCmLP/nNv4oqbgQeZgu76yPPbCN95/+33BdglW5r1osWFCpFLQtu/W4C4nOgciXmOf5Y3/QAqOvywwVzsr15cQ15e26NJ5cYicZM7jMSacSkAC5Na98QhKigutjZy9LrjKAhisxwbWEp/JrLspJ/q7HJx4gXlJ+ISAjmvkWKQRk+92ui8fBCeA1VO9VANbjl3+sl24AXDU2xk42rmb+Rkw==

**JORGE AURELIO MANZO ESPIN | Fecha:2023-05-24 06:55:41 | Firmante**

YXwciMdlk+M7JYwoOTAFphO6ukRk8lHeO45fyag70B0Ga+fsgCwYGSUsaGvlwTT4u0Tq6cR4nggiXrYUo2pyBCDMciqgpcWFzL0N5CNg6a11yY/NpSD8o3O/1kfSQjLIHG83j2cbqZ9eCB/rfS9e7UxbcQy/xBvL2D1S4iPlz67colrPSKQclXPG8D6SrTvBLv1VrCqivKLnfgweSPH58KhpOya/2YJQ8zcTmXe9GSwo1233BPvBaCaquPyadq6CEH/0HrLDiN9mfXhxy9aMcUC6h33tVjucwluGzy4lhgoMGdyDTJvAWczKM5RizH37DttlkmGyUcMxnw==

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



IKg9wcPu5

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/IBwALYO74nMXc2Q2zt0z2wrceInoxcQZ>