



UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y
TECNOLÓGICAS

POSGRADO EN BIOCENCIAS

**ANÁLISIS FITOQUÍMICO Y EVALUACIÓN DEL
EFECTO ANTIOXIDANTE Y ANTIBACTERIANO
DE HOJAS Y TALLOS DE *Jatropha cinerea* (Ortega)
Müll. Arg. Y *Jatropha cordata* (Ortega) Müll. Arg.**

TESIS

que para obtener el grado de:

MAESTRA EN BIOCENCIAS

presenta:

YEIMI CECILIA VEGA RUIZ

Hermosillo, Sonora, México

15 de diciembre de 2020

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

DERECHOS DE AUTOR

El presente trabajo de tesis se presenta como uno de los requisitos parciales para la obtención del grado de **Maestro en Biociencias** de la Universidad de Sonora.

Se deposita en la biblioteca de Ciencias Biológicas y de la Salud para ponerla a disposición de los interesados. Se permiten citas breves del material contenido en la tesis sin permiso del autor, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente. Para reproducir, o en su caso referirse a este documento en forma parcial o total, se deberá solicitar la autorización al Coordinador del Programa del Posgrado.

Bajo cualquier otra circunstancia se debe solicitar permiso directamente al autor.

Atentamente

Yeimi Cecilia Vega Ruiz

Autor

Dra. Ángela Corina Hayano Kanashiro

Coordinadora del Programa de Maestría en Biociencias

ANÁLISIS FITOQUÍMICO Y EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIOXIDANTE Y
ANTIBACTERIANO DE HOJAS Y TALLOS DE *Jatropha cinerea* (Ortega) Müll. Arg. Y
Jatropha cordata (Ortega) Müll. Arg.

T E S I S

Que para obtener el grado de

Maestra en Biociencias

Presenta:

YEIMI CECILIA VEGA RUIZ

Hermosillo, Sonora, México.

15 diciembre 2020

APROBACIÓN

Los miembros del Comité designado para revisar la tesis titulada “Análisis fitoquímico y evaluación del efecto antioxidante y antibacteriano de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* (Ortega) Müll. Arg. y *Jatropha cordata* (Ortega) Müll. Arg.” presentada por Yeimi Cecilia Vega Ruiz, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Biociencias con Especialidad en Biociencias.



Dr. Luis Ángel Medina Juárez
Director y Presidente



Dra. Ángela Corina Hayano Kanashiro
Co-Directora



Dra. Nohemí Gámez Meza
Sinodal interno y Secretario



**Dra. Kadiya del Carmen Calderón
Alvarado**
Sinodal interno

RODELAS

GONZALEZ MARIA

BELEN - 24226613T

Firmado digitalmente por
RODELAS GONZALEZ
MARIA BELEN - 24226613T
Fecha: 2020.12.02 16:05:53
+01'00'

Dra. María Belén Rodelas González
Sinodal externo

DEDICATORIA

Fueron dos años de trabajo, esfuerzos, desvelos y estrés, pero también de gratos momentos, donde cada experiencia vivida formó parte de nuestro camino, por eso este logro no es mío, este logro es nuestro, ustedes son mi mundo...

A mis padres que sin duda alguna sin ustedes simplemente no existiría, gracias por darme la vida y construir para nosotras un mundo maravilloso, lleno de amor, cariño, respeto y educación, gracias por permitirme llegar tan lejos.

Mami: Eres la mujer más valiente, fuerte y talentosa, gracias por nunca rendirte inclusive en los momentos más difíciles, por acompañarme y apoyarme incondicionalmente siempre, por permitirme continuar por más loco que parezca, eres nuestro todo.

Nita: nita, nita, nita... Eres mi debilidad en pequeño y a la vez lo más grande para mí, eres mi luz en el camino, gracias por existir, por acompañarme, por escucharme, por apoyarme, por siempre estar para mí, solo bastan miradas para conversar y no logro imaginar mi vida sin ti.

Luis: las circunstancias de la vida me enseñaron y me demostraron que eres mi hermanito... Gracias por estar incondicionalmente para nosotras siempre, por apoyarnos y apoyarme en la realización de este proyecto, por tus desvelos junto con nosotras, gracias por formar parte de esta familia y de formar nuestro nuevo hogar.

A mi "*no amigo*": Humberto... Muchas gracias por acompañarme, escucharme, aconsejarme y por tu inmensurable apoyo a deshoras, por todas las aventuras vividas en estos dos años, por afrontar cada reto conmigo y por hacerte presente a pesar de la distancia.

Por último... En memoria de mi super superhéroe, quien me dio la lección de vida más grande, me enseñó a ser fuerte ante cualquier situación y su presencia me acompañó en todo momento.

Huesos: *“Puedes lograr todo lo que te propongas y puedes llegar muy lejos, solo hazlo, tú continua siempre”...*

Juntos me mostraron el camino, sin duda es nuestro logro familia...

AGRADECIMIENTOS

A quien me otorga la inmensidad, amor y fe indestructible, gracias por la fortaleza que siempre me has dado, por ser mi guía y no dejarme sola en ningún momento, por más oscuro que parezca el camino...

Muchas gracias a mi comité de tesis:

Dr. Luis Ángel Medina Juárez: de principio al fin, siempre estuvo conmigo en todo momento, aplaudió mis logros, corrigió mis errores y a pesar de todo lo que implicó mi estancia en el posgrado siempre me ofreció su sincero apoyo incondicional, muchas gracias por confiar en mi he impulsarme a crecer siempre.

Dra. Ángela Corina Hayano Kanashiro: sin duda alguna cada uno de sus consejos y observaciones fueron de gran impacto en mi vida, no solo en el ámbito profesional. Gracias por escucharme y apoyarme de principio a fin, por permitirme afrontar cada circunstancia que se presentó y no rendirse conmigo, por impulsarme en cada momento y hacerme sentir parte de su equipo de trabajo.

Dra. Nohemí Gamez Meza: Muchas gracias por su apoyo, consejos y el tiempo dedicado para la realización de este proyecto.

Dra. Kadiya del Carmen Calderón Alvarado: le agradezco sinceramente TODO su apoyo, gracias por apostar siempre a lo positivo, por permitirme aprender de su perseverancia, actitud, su poder y pasión, por abrirme las puertas de su sitio de trabajo, mover cielo, mar y tierra para conseguir lo que necesitaba, porque con cada acción usted me daba grandes lecciones y aprendí de cada una de ellas, fue muy gratificante haber trabajado con usted y nunca olvidaré todas las herramientas profesionales y personales que me dio en el camino, guardo con cariño cada consejo que me brindó.

Dra. María Belén Rodelas González: Muchas gracias por formar parte de este equipo de trabajo, por no rendirse con cada reto que implicó, por sus minuciosas correcciones que me ayudaron a siempre mejorar, porque a pesar de las diferencias de horario siempre tuvo

disponibilidad de estar presente, escucharme y apoyarme, muchas gracias por darme la oportunidad de tenerla en mi comité de tesis.

Nunca olvidare la huella que cada uno dejo en mi camino de formación profesional y personal, cada uno tiene un lugar especial.

Gracias la Dra. Luisa Rascón y a sus estudiantes, Alberto, Shava y Humberto, por permitirme desarrollar parte de este proyecto en el laboratorio de Química y Productos naturales del Departamento de Ciencias Químico Biológicas, muchas gracias por su apoyo, su tiempo y enseñanzas fue un placer compartir con ustedes parte de mi camino.

Gracias a Claudia Celeste Molina por su tiempo, consejos, apoyo incondicional, por brindarme la confianza, acciones y palabras que necesite en cada momento, gracias por hacerme sentir en familia siempre y por enseñarme tanto en tan poco tiempo. Muchas gracias.

A mis compañeros y amigos de laboratorio porque a pesar de todo SIEMPRE estuvieron apoyándome, gracias por acompañarme en los mejores y peores momentos, por permitirme ser parte de sus vidas, muchas gracias: Alejandro, Marcos, Dra. Maribel, Ricardo, Brenda, Emily, Ramón.

“Chinitos” muchas gracias por tu sincera amistad, por acompañarme incondicionalmente en cada momento, por las risas y el llanto, sin tu compañía no habría sido lo mismo, formaste parte importante en mí camino, gracias por mostrarme tu mundo y permitirme ser parte de él.

A mis compañeros y amigos “*de al lado*”; Pablo, Fernando, Damaris, Marielena, Genesis y Karla porque a pesar de mis ausencias siempre me hicieron sentir parte del equipo, fue un maravilloso y grato placer coincidir, gracias por sus consejos, tiempo, apoyo, por hacer más bonito mi camino en el posgrado y hacer crecer mi mundo.

Karla te convertiste rápidamente en mi cómplice en este camino, muchas gracias por acompañarme íntimamente en todo el camino.

A la chica misteriosa que un día me reconfortó y enseñó a continuar a pesar de todo, gracias por tus palabras y por iluminar mi mundo en el momento preciso...

A mis amigos de toda la vida por acompañarme todo el tiempo sin duda ni condicional alguna,
Julio, Jovana, Elena, Dany.

A CONACYT por haber financiado la realización del presente proyecto.

Y a todas las personas que sin mencionarlos me acompañaron en la realización de este proyecto, gracias por escucharme y estar conmigo, aunque sea en momentos fugaces.

RESUMEN

Las especies del género *Jatropha* son un recurso natural con abundantes metabolitos secundarios asociados a propiedades bioactivas antioxidantes, antimicrobianas y anticancerígenas. *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* se localizan en la región noroeste de México, sus tallos, hojas, raíz y látex son utilizados en la medicina tradicional para tratar enfermedades infecciosas. Sin embargo, actualmente se desconoce qué tipo de metabolitos secundarios producen estas especies y qué actividad biológica podrían tener. El objetivo del presente trabajo fue realizar la caracterización fitoquímica por medio de un análisis cualitativo, cuantificación de fenoles y flavonoides totales, así como por HPLC-DAD y ESI-IT-MS/MS. Además, se determinó la actividad antioxidante por medio de ABTS y DPPH y se evaluó la susceptibilidad antibacteriana frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* por medio de las técnicas de difusión en disco, macro y microdilución de los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*. Los resultados obtenidos mostraron que los extractos de ambas especies de *Jatropha* son fuente de compuestos fenólicos como; ácidos fenólicos y flavonoides con efecto antioxidante, siendo los extractos de hojas de *Jatropha cordata* los que presentaron mayor variedad y concentración de compuestos fenólicos, así como mayor capacidad antioxidante. A pesar de la gran diversidad de compuestos fenólicos presentes en los extractos no fue posible determinar la susceptibilidad antibacteriana de estos, mediante las técnicas utilizadas.

ABSTRACT

The species of the genus *Jatropha* are natural resource with abundant secondary metabolites associated with antioxidant, antimicrobial and anticancer bioactive properties. *Jatropha cinerea* and *Jatropha cordata* are distributed in northwestern region of Mexico. The stems, leaves, roots and latex are used in traditional medicine to treat infectious diseases; however, it is currently unknown the secondary metabolites these species produce and what biological activity might have. The aim of the present work was to carry out the phytochemical characterization by qualitative analysis, quantification of phenols and total flavonoids, as well as by HPLC-DAD and ESI-IT-MS/MS. Furthermore, the antioxidant activity was determined by ABTS and DPPH and antibacterial susceptibility against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was evaluated using disk diffusion, macro and microdilution techniques of the methanolic extracts of leaves and stems of *Jatropha cinerea* and *Jatropha cordata*. The results obtained was shown that the extracts of both *Jatropha* species are a source of phenolic compounds such as phenolic acids and flavonoids with antioxidant effect, being *Jatropha cordata* leaves extracts the ones that presented the highest variety and concentration of phenolic compounds, as well as the best antioxidant capacity. Despite the great diversity of phenolic compounds present in the extracts, it was not possible to determine their antibacterial susceptibility by the techniques used.

ÍNDICE GENERAL

	Página
APROBACIÓN	<i>i</i>
DEDICATORIA	<i>ii</i>
AGRADECIMIENTOS	<i>iv</i>
RESUMEN	<i>vii</i>
ABSTRACT	<i>viii</i>
ÍNDICE DE FIGURAS	<i>xi</i>
ÍNDICE DE TABLAS	<i>xii</i>
INTRODUCCIÓN	1
I. ANTECEDENTES	3
I.1. Biodiversidad de plantas en México y su utilización en la medicina tradicional .	3
I.2. Metabolitos secundarios de plantas	4
I.3. Compuestos fenólicos	6
I.4. Importancia de los compuestos fenólicos y sus principales aplicaciones biológicas	8
I.4.1. Efecto antioxidante de los compuestos fenólicos y su mecanismo de acción	8
I.4.2. Efecto antibacteriano de compuestos fenólicos y su mecanismo de acción	9
I.5. Resistencia a antibióticos: problemática actual a nivel mundial (OMS)	10
I.6. Genero <i>Jatropha</i> y su importancia etnobotánica	11
I.7. <i>Jatropha</i> en el noroeste de México	12
I.8. Descripción botánica y usos de <i>Jatropha cinerea</i> (Ortega) Müll. Arg	13
I.9. Descripción botánica y usos de <i>Jatropha cordata</i> (Ortega) Müll. Arg.	15
II. HIPÓTESIS	19
III. OBJETIVOS	20
III.1. Objetivo general	20
III.2. Objetivos específicos	20
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	21
IV.1 Material biológico	21
IV.2. Preparación del material vegetal y extracto metanólico	21
IV.3. Análisis cualitativo de los extractos metanólicos de hojas y tallos de <i>Jatropha cinerea</i> y <i>Jatropha cordata</i>	23
IV.4. Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos	23
IV.5. Identificación de compuestos fenólicos mediante espectrometría de masas	24
IV.6. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales	25
IV.6.1. Fenoles totales	25
IV.6.2. Flavonoides totales	25
IV.7. Evaluación del efecto antioxidante	25
IV.7.1. Ensayo con el radical 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolín-6-sulfonato de amonio)	26
IV.7.2. Ensayo con el radical 2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)	26
IV.8. Evaluación del efecto antibacteriano frente a los extractos	27
IV.8.1. Preparación del inóculo y extractos	28
IV.8.2. Técnica de difusión en disco	28
IV.8.3. Técnica de macrodilución en caldo	30

IV.8.4. Técnica de microdilución	30
IV.9. Análisis estadístico	32
V. RESULTADOS	33
V.1. Análisis cualitativo de los extractos metanólicos de hojas y tallos de <i>Jatropha cinerea</i> y <i>Jatropha cordata</i>	33
V.2. Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos	34
V.3. Identificación de compuestos fenólicos mediante espectrometría de masas	36
V.4. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales	39
V.5. Evaluación del efecto antioxidante	39
V.6. Evaluación del efecto antibacteriano	41
V.6.1. Técnica de difusión en disco	41
V.6.2. Técnica de macrodilución en caldo	50
V.6.3. Técnica de microdilución	51
VI. DISCUSIÓN	53
VII. CONCLUSIONES	58
VIII. RECOMENDACIONES	59
IX. LITERATURA CITADA	60
X. APÉNDICES	68
Apéndice 1. Metodología del análisis del perfil fitoquímico cualitativo	68
Apéndice 2. Rendimiento de peso en seco por punto de muestreo de hojas y tallos colectados y molidos de <i>J. cinerea</i> y <i>J. cordata</i>	71

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Estructuras químicas de los 4 principales grupos de metabolitos secundarios de las plantas.	6
2	Compuestos fenólicos comunes en plantas.	7
3	<i>Jatropha cinerea</i> .	14
4	<i>Jatropha cordata</i> .	16
5	Puntos de muestreo de <i>Jatropha cinerea</i> y <i>Jatropha cordata</i> .	22
6	Sembrado del inóculo bacteriano en placa Petri para el análisis de la susceptibilidad antibacteriana frente a los extractos.	29
7	Preparación de las concentraciones de los extractos de hojas y tallos de ambas especies de <i>Jatropha</i> en la microplaca.	31
8	Primer ensayo de susceptibilidad bacteriana del extracto metanólico de <i>Jatropha cordata</i> (15.625 a 250 mg/mL de peso seco), mediante la técnica de difusión en agar.	42
9	Segundo ensayo de susceptibilidad bacteriana del extracto metanólico de <i>Jatropha cordata</i> (0.48 a 15.6 mg/mL de peso seco), mediante la técnica de difusión en disco.	44
10	Tercer ensayo de susceptibilidad bacteriana con el extracto metanólico de <i>Jatropha cordata</i> (0.25 a 250 mg/mL de peso seco), mediante la técnica de difusión en disco.	46
11	Cuarto ensayo de susceptibilidad bacteriana con el extracto metanólico de <i>Jatropha cordata</i> (25 a 250 mg/mL de peso seco), mediante la técnica de difusión en disco.	47
12	Quinto ensayo de susceptibilidad bacteriana con el extracto metanólico de <i>Jatropha cordata</i> (0.5 a 250 mg/mL de peso seco), mediante la técnica de difusión en disco.	48
13	Sexto ensayo de susceptibilidad bacteriana con el extracto metanólico de <i>Jatropha cordata</i> (1 a 250 mg/mL de peso seco), mediante la técnica de difusión en disco.	49
14	Susceptibilidad bacteriana con el extracto metanólico de hojas de <i>Jatropha cordata</i> (0.24 a 250 mg/mL de peso seco) frente a <i>E. coli</i> mediante la técnica de macrodilución en caldo.	50
15	Susceptibilidad bacteriana con los extractos metanólicos de hojas y tallos de <i>Jatropha cinerea</i> y <i>Jatropha cordata</i> (0.012 a 1000 mg/mL de peso seco frente a <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> mediante la técnica de microdilución.	52

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA		PÁGINA
1	Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos metanólicos de la parte aérea de <i>Jatropha cinerea</i> y <i>Jatropha cordata</i> .	34
2	Identificación y cuantificación por HPLC-DAD/MS [$\mu\text{g/g}$ muestra] de los compuestos fenólicos presentes en los extractos metanólicos de hojas y tallos de <i>Jatropha cinerea</i> y <i>Jatropha cordata</i> .	37
3	Compuestos fenólicos identificados de los extractos metanólicos de hojas y tallos de <i>Jatropha cinerea</i> y <i>Jatropha cordata</i> , por medio de ESI-IT-MS/MS.	38
4	Contenido de fenoles y flavonoides totales y efecto antioxidante de los extractos de hojas y tallos de metanólicos de <i>Jatropha cinerea</i> y <i>Jatropha cordata</i> .	41

INTRODUCCIÓN

Estudios recientes de las plantas del género *Jatropha* han mostrado su potencial como fuente de compuestos con propiedades farmacológicas, antimicrobianas, antioxidantes, anticancerígenas, además de ser una fuente importante de proteínas y lípidos (Ashish *et al.*, 2016, Sabandar *et al.*, 2012, Sharma y Singh, 2012). Este género se distribuye en las zonas tropicales y subtropicales del continente americano y europeo, particularmente en regiones estacionales. Es el cuarto género más diverso de la familia Euphorbiaceae con 180 especies de las cuales para México se reportan 50 especies, que pertenecen a la subfamilia Crotonoideae y a la tribu Jatropeae (Steinmann, 2002). *Jatropha curcas* es la especie más estudiada en el género y está ampliamente distribuida en México a lo largo de la costa del Océano Pacífico y el Golfo de México. En la medicina tradicional es utilizada para tratar diversas enfermedades (Sosa *et al.*, 2014). Sin embargo, en el caso de las especies *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* las cuales se encuentran ampliamente distribuidas en la región noroeste de México aún no han sido reportados estudios de compuestos bioactivos.

Actualmente, la búsqueda de productos de origen natural, como compuestos, extractos o cualquier derivado que pudieran utilizarse para tratar infecciones por microorganismos patógenos, se ha intensificado (OMS, 2018). Siendo las plantas uno de los recursos naturales más amplio y con valioso potencial en la medicina tradicional, se estima que entre el 60 y 80% de la población mundial depende de plantas medicinales para el cuidado primario y al menos 35,000 especies vegetales presentan potencial para uso medicinal (Villalvazo, 2017). México posee una riqueza florística total de 23,314 especies que lo colocan en el cuarto lugar en el mundo y aproximadamente el 50% de esta flora es endémica (Villaseñor, 2016).

En la actualidad, cada vez es mayor el número de infecciones (neumonía, tuberculosis, gonorrea y salmonelosis) cuyo tratamiento se vuelve más difícil debido a la pérdida de eficacia de los antibióticos, esto debido al uso inadecuado de estos fármacos que está acelerando el proceso de resistencia a los mismos, prolongando las estancias hospitalarias, incrementando los costos médicos y aumentando la mortalidad. Debido a esto, la resistencia a los antibióticos es hoy una de las mayores amenazas para la salud mundial, la seguridad alimentaria y el

desarrollo, pudiendo afectar a cualquier persona. Las bacterias que frecuentemente desarrollan un mayor número de resistencia son *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*, seguidas de *Salmonella* spp. (OMS, 2018).

Ante esta situación, la búsqueda de nuevos compuestos antimicrobianos que puedan ser útiles en terapia es una de las prioridades actuales de la microbiología, por ello es necesario el estudio de plantas medicinales como *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* aprovechando de forma integral y adecuada el recurso vegetal propio de la región, por ello en este trabajo se realizó la caracterización fitoquímica de los compuestos fenólicos de extractos de tallos y hojas de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* y se evaluó su capacidad antioxidante y el efecto antibacteriano *in vitro* en bacterias patógenas de interés clínico.

I. ANTECEDENTES

I.1. Biodiversidad de plantas en México y su utilización en la medicina tradicional

México se encuentra dentro de la Zona de Transición Mexicana de dos regiones biogeográficas diferentes; la zona Neártica y Neotropical, lo cual le permite al país poseer gran diversidad de especies y de linajes filéticos, resultado de la acumulación de biota desde el Cretácico hasta nuestros días (Halffer, 2017). Dada la gran diversidad biológica específica y ecosistémica, que posee el país, éste se encuentra situado como el quinto país megadiverso a nivel mundial (CONABIO, 2014).

En términos de diversidad florística, las dicotiledóneas (Clase Magnoliopsida; plantas vasculares con flor) son el grupo más diverso de todas las plantas vasculares, representando el 75.5% de la riqueza genérica mexicana, con al menos 2,685 géneros que se incluyen en 247 familias y a su vez contienen un total de 21,841 especies. Además, el 7.8% de los géneros corresponden a la riqueza endémica mexicana (Villaseñor *et al.*, 2014). Dentro de las familias con mayor número de especies se encuentran: Astertaceae, Fabaceae, Euphorbiaceae, Lamiaceae y Solanaceae (Heinrich & Jäger, 2015). Por otro lado, se considera que cerca de 4,000 especies de plantas tienen atributos medicinales (17% de la flora total). Sin embargo, su validación química, farmacológica y biomédica se ha llevado a cabo sólo en 5% de estas especies (Llorente-Bousquets y Ocegueda 2008). Además, productos biológicamente activos de las plantas han servido como modelo para la síntesis de fármacos; por lo tanto, la investigación de las plantas medicinales ha propiciado importantes avances en la terapéutica de varias enfermedades. Se estima que mundialmente cerca del 2% de todos los medicamentos modernos son derivados de plantas medicinales (Corrales *et al.*, 2014).

Según la OMS, en el 2013, alrededor de cuatro mil millones de personas, (aproximadamente el 88% de la población mundial), utilizaban las plantas medicinales como primera línea de atención a la salud, dado el acceso económico limitado de la población a los medicamentos de síntesis, aunado al hecho de que los países en vías de desarrollo no tienen una industria farmacéutica poderosa. Actualmente, la utilización de plantas medicinales como

materia prima para la producción de extractos o para el aislamiento de sustancias naturales puras, representa un sector en crecimiento (Saha *et al.*, 2019).

La medicina tradicional mexicana, ha sido utilizada desde tiempos inmemorables principalmente por sus 60 grupos étnicos, quienes utilizan más de 5,000 plantas, esta es una práctica presente en la cultura mexicana (Juárez-Rosete *et al.*, 2013; Gómez & Koh, 2019). Tan solo en la región noroeste del país, en el Estado de Sonora, se estima que existen alrededor de 3,000 especies de plantas, ampliamente utilizadas en la medicina tradicional, principalmente por los grupos étnicos locales: Yaquis, Mayos, Seris, Guarijíos, Pimas, Kikapúes y Pápagos, estos grupos étnicos recurren a la utilización de la flora existente en el estado y realizan preparaciones herbarias para tratar diversas patologías de forma tradicional y cultural (Robles-Zepeda *et al.*, 2013).

I.2. Metabolitos secundarios de plantas

Gran parte de la dieta humana está formada por plantas y constituyentes vegetales y sus valores nutricionales han sido ampliamente estudiados. Estos componentes nutricionales o biomoléculas (carbohidratos, lípidos y proteínas) se producen biosintéticamente por medio de plantas verdes fotosintéticas que forman la base de casi todas las cadenas alimentarias en la tierra. A estas biomoléculas se les conoce como metabolitos primarios (Delgoda y Murray, 2017), en cuya síntesis se generan compuestos precursores, así como energía (ATP) y poder reductor (por las reacciones redox metabólicas) a través de las principales vías conocidas como glucólisis y el ciclo de Krebs y su principal función es la generación de energía para la planta y reducir el poder de las reacciones de oxidación-reducción de los compuestos orgánicos. Estos procesos constituyen la unidad fundamental de toda la materia viva (De Rezende *et al.*, 2016). Además de los metabolitos primarios esenciales, se estima que las plantas también pueden sintetizar al menos un millón de otros compuestos de naturaleza muy diversa, los cuales son típicamente de bajo peso molecular y parecen no contribuir directamente a las funciones del metabolismo primario de la planta y, por lo tanto, se conocen como "Metabolitos secundarios" (Delgoda y Murray, 2017). Los cuales actúan como atractivos o repelentes de polinizadores, disuasivos herbívoros, ayudan en la protección contra

la radiación UV y la contaminación, estrés hídrico, en la señalización intraespecífica, en la alelopatía, entre otras funciones, además de presentar alta plasticidad genética y diversidad, con una distribución restringida en el reino vegetal pues se sintetizan en pequeñas cantidades y de forma específica determinada al género, familia o especie de planta (Avalos y Pérez, 2009). Reportes científicos han comprobado que, para la humanidad, estas son las sustancias responsables del efecto medicinal de una planta; sin embargo, dependiendo de la dosis administrada, el efecto ya no es terapéutico y se vuelve tóxico (De Rezende *et al.*, 2016).

Los metabolitos secundarios, pueden dividirse en 4 grupos principales (Figura 1) (Ávalos y Pérez, 2009):

- **Terpenos**: constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios (más de 40,000 moléculas diferentes). La ruta biosintética de estos compuestos da lugar tanto a metabolitos primarios como secundarios de gran importancia para el crecimiento y supervivencia de las plantas. Suelen ser insolubles en agua y derivan todos ellos de la unión de unidades de isopreno.
- **Compuestos fenólicos**: Compuestos que contienen un grupo fenol en su estructura (un anillo aromático con un grupo hidroxilo). Son un grupo muy diverso que comprende desde moléculas sencillas como los ácidos fenólicos hasta polímeros complejos como los taninos y la lignina. En el grupo también se encuentran pigmentos flavonoides, muchos de estos productos están implicados en las interacciones planta-herbívoro.
- **Glicósidos**: Compuestos con un enlace glicosídico (se forma cuando una molécula de azúcar se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo). Existen tres grupos de glicósidos de particular interés: saponinas, glicósidos cardiacos y glicósidos cianogénicos, utilizados por la planta como repelentes.
- **Alcaloides**: son una gran familia de más de 15,000 metabolitos secundarios que tienen en común tres características: son solubles en agua, contienen al menos un átomo de nitrógeno en la molécula y exhiben actividad biológica. La mayoría son heterocíclicos, aunque algunos son compuestos nitrogenados alifáticos (no cíclicos).

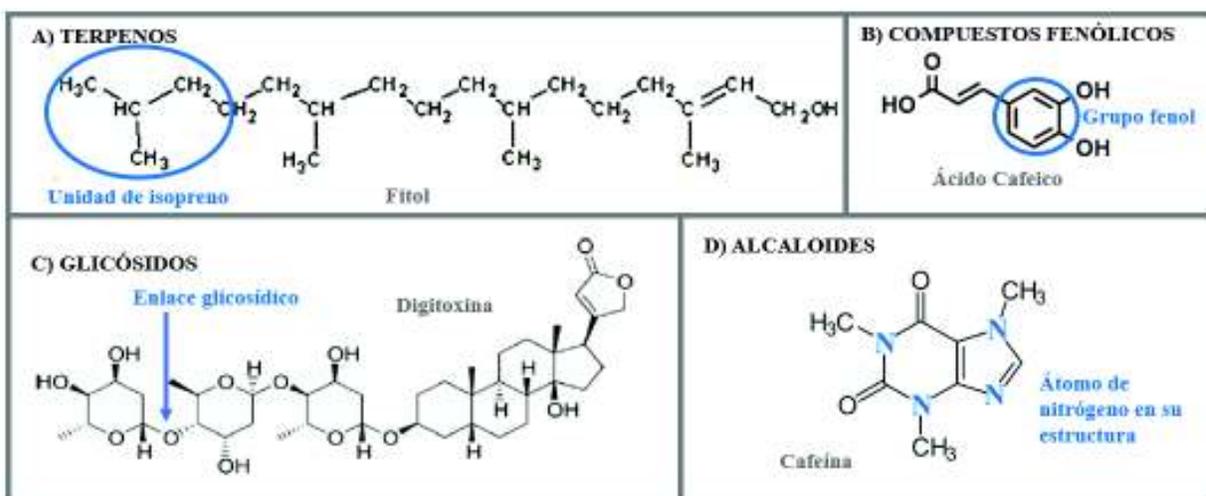


Figura 1. Estructuras químicas de los 4 principales grupos de metabolitos secundarios de las plantas. **A: Terpenos**; formados por unidades de isopreno (fitol forma parte de las clorofilas en las plantas). **B: Compuestos fenólicos**; formados por un grupo fenol (ácido cafeico precursor de otros compuestos fenólicos). **C: Glicósidos**; caracterizados por la unión de azúcares mediante un enlace glucosídico (Digitoxina, utilizada para tratar la insuficiencia cardiaca). **D: Alcaloides**; contienen al menos un átomo de nitrógeno en su estructura (Cafeína, utilizada como estimulante del sistema nervioso) (Ávalos y Pérez, 2009).

I.3. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos constituyen una parte importante de todos los metabolitos secundarios de plantas descubiertos hasta la fecha, se estima que existen alrededor de 8,000 compuestos, que se distribuyen en todos los órganos de la planta (Saltveit, 2017). Estos se caracterizan por la presencia en su estructura química de un anillo aromático (C6) unido directamente a al menos un (fenol) o más (polifenol), grupos hidroxilo (-OH), así como a otros sustituyentes, como los grupos metoxilo o carboxilo que causan el carácter polar de este tipo de compuestos y permiten su disolución en agua. Este grupo de compuestos generalmente se dividen en dos grupos: fenoles simples (ácidos fenólicos) y derivados más complejos (flavonoides), que a menudo contienen varios anillos aromáticos unidos entre si formando moléculas de estructuras más complejas. Dentro de la variedad de compuestos que conforman este grupo de metabolitos secundarios se encuentran: flavonoides simples, ácidos fenólicos, flavonoides complejos y antocianinas (Figura 2) (Kubalt, 2016).

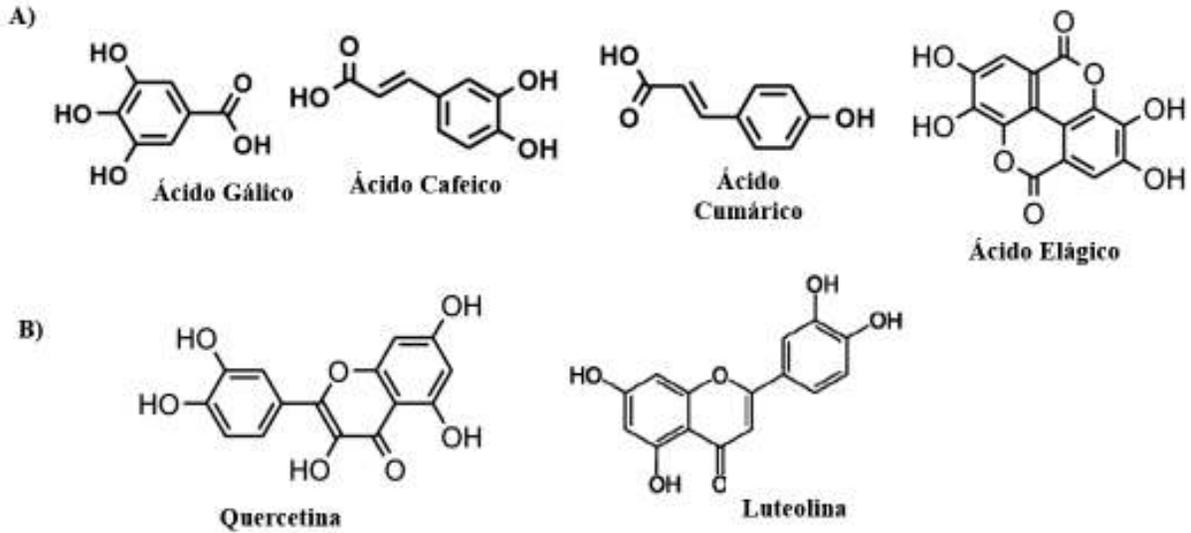


Figura 2. Compuestos fenólicos comunes en plantas. Los cuales comprenden un anillo aromático, llevan uno o más sustituyentes hidroxilo y varían desde moléculas fenólicas simples hasta compuestos altamente polimerizados. A) Estructuras químicas de compuestos fenólicos simples. B) Estructuras químicas de flavonoides comunes. (Adaptado de Lin *et al.*, 2016 y Kulbat, 2016).

Dentro de los compuestos fenólicos se encuentran los flavonoides conformados por: las chalconas, flavonas, flavonoles, proantocianidinas, sus derivados antocianidinas y taninos condensados. En la actualidad se han identificado al menos 6000 flavonoides. Su biosíntesis aumenta después de una infección microbiana y/o lesiones en la planta, por la disminución de la temperatura y deficiencia de nutrientes; sin embargo, la mayoría de los flavonoides actúan como antimicrobianos para la planta y algunos son capaces de absorber la luz ultravioleta excesiva, protegiendo del daño oxidativo a las células, además proporcionan color a los órganos de las plantas y van de las tonalidades del amarillo (por ejemplo, quercetina clasificada como flavonol) o tonos de azul a rosa. Estos compuestos son almacenados en las vacuolas de las células epiteliales para proteger los tejidos más profundos. Son capaces de absorber la radiación siendo su pico de absorción máximo a 250-270 nm y 335-360 nm (Rempe *et al.*, 2017).

Por otro lado, los taninos son otro grupo perteneciente a los compuestos fenólicos que se encargan principalmente de proteger a las plantas de los herbívoros, debido a sus propiedades

repelentes, las cuales se deben principalmente a su sabor desagradable y amargo, características que los convierten en compuestos que brindan protección a las plantas contra los insectos. A su vez los taninos se pueden dividir en dos grupos: taninos fácilmente hidrolizables (producidos por polimerización de ácido gálico u otros ácidos fenólicos y algunos azúcares) y taninos condensados (creados mediante la combinación de múltiples unidades de flavonoides). En las plantas se les encuentra en concentraciones relativamente altas principalmente en la corteza y hojas de los árboles (Rempe *et al.*, 2017).

Los compuestos fenólicos desempeñan un papel fundamental en la interacción de las plantas con el medio ambiente, principalmente cumplen funciones como protección y defensa contra factores bióticos y abióticos, así como efectos protectores, antibacterianos y antifúngicos (Babbar *et al.*, 2014; Lin *et al.*, 2016).

I.4. Importancia de los compuestos fenólicos y sus principales aplicaciones biológicas

Los compuestos fenólicos han sido ampliamente utilizados en diferentes sectores industriales ya sean empleados como extractos de plantas o compuestos activos aislados de los mismos, este grupo de moléculas continúan utilizándose principalmente por la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica (Saha *et al.*, 2019). Una característica relevante que muestran los compuestos fenólicos o los productos ricos en polifenoles es que éstos ayudan a modular el metabolismo de carbohidratos y lípidos, como agentes antienvjecimiento, antiinflamatorios, antioxidantes, antiproliferativos y antimicrobianos; además, ayudan en la prevención del desarrollo de complicaciones en pacientes con diabetes, enfermedades cardiovasculares y neuropatías. Debido a estos hallazgos con respecto a sus actividades biológicas es que actualmente son objeto de estudio para su identificación y obtención, hasta demostrar su aplicación biológica, como compuestos bioactivos (Kubalt, 2016; Lyn *et al.*, 2016).

I.4.1. Efecto antioxidante de los compuestos fenólicos y su mecanismo de acción

Los compuestos fenólicos son los más estudiados debido a su potente efecto antioxidante, que ayudan a regular los efectos del estrés oxidativo (propiedad que los caracteriza y diferencia del resto de los grupos de metabolitos secundarios) (Kubalt, 2016; Saha *et al.*, 2019). Esta potente

actividad resulta de una combinación de sus propiedades quelantes de hierro y secuestradoras de radicales libres. Además, a nivel enzimático actúan en la inhibición de oxidasas, como la lipoxigenasa, la ciclooxigenasa, la mieloperoxidasa, la NADPH oxidasa y la xantina oxidasa, evitando la generación de especies reactivas de oxígeno *in vivo*, así como de hidroperóxidos orgánicos. Por otra parte, se conoce que inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa A2 y al mismo tiempo estimulan otras con reconocidas propiedades antioxidantes, como la catalasa y la enzima superóxido dismutasa. De esta forma los flavonoides interfieren en las reacciones de formación y propagación de radicales libres (Zou *et al.*, 2016). Sin embargo, esta actividad que poseen los compuestos fenólicos depende de la estructura de las moléculas y del número y posición de los grupos hidroxilo. Además de las propiedades antioxidantes, los fenoles (en particular los flavonoides) estabilizan las membranas celulares al disminuir su fluidez, lo que a su vez limita la difusión de los radicales libres y reduce la peroxidación de los lípidos de la membrana celular (Kubalt, 2016).

Desde el punto de vista farmacológico y terapéutico, las propiedades antioxidantes de los polifenoles, como la eliminación de radicales libres y la inhibición de la peroxidación lipídica, son las más cruciales. Aunque se sabe que una variedad de hierbas son fuentes de compuestos fenólicos, los estudios sobre la composición fitoquímica de polifenoles y la evaluación de sus propiedades antioxidantes rara vez se han llevado a cabo, además de considerar que la capacidad antioxidante puede verse influenciada por el contenido total de fenólicos y antocianinas, la madurez, una variedad de especies y fenología de las plantas (Sytar *et al.*, 2018).

I.4.2. Efecto antibacteriano de compuestos fenólicos y su mecanismo de acción

Especies pertenecientes al género *Jatropha*, tales como: *J. curcas*, *J. weddelliana*, *J. gossypifolia*, *J. mollissima*, *J. multifida*, *J. zeyheri* y *J. dioica*, han presentado efecto antimicrobiano contra bacterias de relevancia clínica (Cavalcante *et al.*, 2020).

Los compuestos fenólicos presentes en estas especies de *Jatropha*, han comprobado ser los responsables de alteraciones a nivel membranal. Los principales mecanismos de acción

reportados para los compuestos fenólicos se relacionan con las características estructurales de los mismos, por lo cual se han diseñado y utilizado membranas modelo para probar la interacción directa con estos, siendo el ácido clorogénico, quercetina, apigenina, entre otros compuestos fenólicos, para los que actualmente se ha reportado alguna interacción, en su mayoría a nivel membranal (Li *et al.*, 2014; Tsou *et al.*, 2016; Shakia *et al.*, 2011). La interrupción de la membrana, tanto en bacterias gram-positivas como en gram-negativas, contribuye al efecto antibacteriano de la mayoría de los fenólicos vegetales que han sido evaluados. Rempe *et al.* (2017) reportan que los ácidos ferúlico y gálico aumentan la hidrofilia superficial de las bacterias gram-negativas y en bacterias gram-positivas podrían atribuirse a la interacción directa con la membrana o a una interacción con componentes intracelulares que afectan la química de la pared celular.

I.5. Resistencia a antibióticos: problemática actual a nivel mundial (OMS)

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2018) publicó su primera lista de “patógenos prioritarios” resistentes a los antibióticos, en la que se incluyen las 12 familias de bacterias más peligrosas para la salud humana. Estas bacterias han adquirido resistencia a un elevado número de antibióticos, como los carbapenémicos y las cefalosporinas de tercera generación (los mejores antibióticos disponibles para tratar las bacterias multirresistentes). El grupo de bacterias multirresistentes es peligroso en hospitales, residencias de ancianos y entre los pacientes que necesitan ser atendidos con dispositivos como ventiladores y catéteres intravenosos. Entre tales bacterias se incluyen las siguientes: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. *Helicobacter pylori*, *Campylobacter* spp., *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* y varias enterobacteriáceas como *Klebsiella*, *Serratia* y *Proteus* que son bacterias que pueden provocar infecciones graves y a menudo letales, como infecciones del torrente sanguíneo y neumonías (OMS, 2018).

Escherichia coli es con frecuencia resistente a los fármacos de primera línea. Ocurre lo mismo para *Staphylococcus aureus* (causa frecuente de infecciones graves en los centros sanitarios y en la comunidad), donde los fármacos de primera línea para tratar los

padecimientos causados por este patógeno son actualmente disfuncionales. Se calcula que los pacientes con infecciones por *S. aureus* resistente a la meticilina tienen una probabilidad de morir un 64% mayor que los pacientes con infecciones no resistentes (OMS, 2018). Se estima que esta problemática podría causar hasta 10 millones de muertes cada año hasta 2050. Por tal razón, existe una grave falta de opciones terapéuticas para las infecciones causadas por cepas resistentes a los antibióticos, por ello es importante la búsqueda de nuevos blancos terapéuticos, principalmente de origen natural, que podrían coadyuvar en los tratamientos actuales.

I.6. Género *Jatropha* y su importancia etnobotánica

Jatropha curcas es la especie modelo del género *Jatropha*, su estudio se inicia debido a que es una planta de propósitos múltiples con potencial para la producción de biodiesel y usos medicinales. En los últimos años, el mayor interés se centra en el aceite de su semilla, con gran potencial para la producción de biodiesel, esto ha fomentado el cultivo de la planta a gran escala (Devappa *et al.*, 2012). Además, esta especie tiene el potencial de crecer en ambientes perturbados (King *et al.* 2009; Fresnedo-Ramírez y Orozco-Ramírez, 2013).

No obstante, diferentes especies pertenecientes al género *Jatropha* han sido ampliamente utilizadas en la medicina tradicional. Por tal razón, se han estudiado varias especies del género *Jatropha* que pudiesen ser utilizadas para el tratamiento de diversas enfermedades, incluidas infecciones bacterianas y fúngicas, donde se ha utilizado raíz, tallo, hojas, látex, semillas y corteza (Reena *et al.*, 2008).

Los extractos de varias especies de *Jatropha*, incluido *J. curcas*, mostraron potentes actividades citotóxicas, antitumorales y antimicrobianas en diferentes ensayos. El látex de *J. curcas* mostró efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* (Gallardo *et al.*, 2018) y es también utilizado para tratar candidiasis oral y herpes simple (Osuna *et al.*, 2015). El extracto metanólico de la raíz de esta especie exhibe actividad antidiarreica en ratones mediante la inhibición de la biosíntesis de prostaglandinas y la reducción de la presión osmótica (Mujumdar *et al.*, 2001). Las hojas de *J. curcas* se utilizan para tratar: fiebre, infecciones bucales, ictericia, úlceras de Guinea y reumatismo articular; además, la savia y hojas trituradas

han mostrado actividad antiparasitaria (Pérez-Rúa, 2007). De esta especie se han identificado metabolitos con actividad antirretroviral, actuando como inhibidor de la replicación del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) (Pabón *et al.*, 2012). Un éster metílico aislado del aceite de semilla de esta especie presentó actividad citotóxica en la línea celular de cáncer de pulmón A-549 (Yang *et al.*, 2013). Extractos metanólicos de las semillas, hojas y tallo de *Jatropha curcas*, mostraron efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus faecalis* (Paul *et al.*, 2016).

Debido a la importancia y al potencial poco explorado que ofrecen otras especies de *Jatropha*, en la actualidad se intensifica la búsqueda de metabolitos secundarios con propiedades bioactivas de interés etnobotánico (Cavalcante *et al.*, 2020).

I.7. *Jatropha* en el noroeste de México

México es el centro de diversidad y endemismo del género *Jatropha*. Según la literatura, 50 de las 186 especies de *Jatropha* conocidas se encuentran en México (aproximadamente el 21%) y 39 de ellas son endémicas convirtiendo al país en el centro de endemismo y diversidad del género (Govaerts *et al.*, 2012; Steinmann, 2002). La distribución que suelen tener la mayoría de las especies encontradas en México es en zonas semiáridas (matorrales xéricos), así como en zonas subtropicales (bosques de hoja ancha, secas y húmedas). Dicha distribución de acuerdo con las regiones geográficas es heterogénea, desde registros de especies en el norte, como en la Sierra Madre Occidental, el Desierto de Chihuahua y Tamaulipas. La meseta central mexicana y el Cinturón Volcánico Transmexicano arrojaron menos registros en comparación con áreas adyacentes como la Cuenca del Bajío y Balsas, posiblemente porque las tierras altas no son un entorno propicio para el crecimiento de las especies de *Jatropha*. La distribución de las especies en el país se divide en siete grupos según la regionalización ecogeográfica de México. El grupo localizado en el noroeste de México con 17 especies de *Jatropha*, se caracteriza por crecer en hábitats de bosques caducifolios tropicales y subtropicales, bosques secos de hoja ancha y desiertos semiáridos y cálidos (matorrales xéricos), principalmente en las tierras bajas, con el 90% de los registros cayendo en elevaciones inferiores a 800 msnm, siendo los climas predominantes semi-caliente muy seco,

caliente muy seco, semi-caliente seco y caliente semi-seco. Únicamente el 6% de los registros se ubicaron en un clima cálido subhúmedo, los tipos de suelos que presentan estas regiones climáticas son: regosol, lithosol, cambisol y Solonchak. Dentro de las especies más representativas en esta región biogeográfica se encuentran: *J. cinerea*, *J. cuneata*, *J. cordata*, *J. cardiophylla* y *J. malacophylla* (Fresnedo-Ramírez y Orozco-Ramírez, 2013).

I.8. Descripción botánica y usos de *Jatropha cinerea* (Ortega) Müll. Arg

Jatropha cinerea (Ortega.) Müll. Arg. (Figura 3), tiene como sinónimos *Mozzina cinerea* (Ortega.) *M. canescens*, *Jatropha canescens*, (Benth) Müll. Arg., y *J. giffordiana* Dehgan et Webster. Se le conoce con los nombres comunes de sangregado, sapo, sangringrada, lomboy y lomboy blanco. Se describe como un arbusto que mide entre 1 y 3 m de alto con corteza café o blanquecina y pueden encontrarse plantas dioicas y monoicas. Su crecimiento es articulado, caracterizado por un incremento anual de la extensión de las yemas con distinta discontinuidad morfológica o articulación entre cada incremento, presenta un dimorfismo de brotes. Tiene cinco raíces, la primera es la raíz central que es persistente, bien desarrollada e invariablemente se convierte en carnosas, crece rápido en profundidad, formando la raíz primaria pivotante, las otras cuatro raíces están organizadas equidistantemente (Dehgan y Webster, 1979). Estas raíces poco profundas aparecen como raíces suculentas sobre el suelo; hojas de 2 a los 7 cm de ancho, más o menos cordadas en la base, espatuladas enteras o más o menos onduladas; los brotes son cortos, presentan de 3 a 5 lóbulos, se caracterizan por presentar glándulas estipitadas sobre los márgenes del folio, cáliz lobulado, estípulas, peciolo y brácteas, que inicia la presencia de glándulas sobre el crecimiento joven que sigue de la dormancia (Sánchez, 2001). La inflorescencia aparentemente remueve el efecto de dominancia apical ya que usualmente las ramas aparecen inmediatamente debajo, son completamente deciduas, las flores estaminadas están presentes por 2 o 3 flores individuales terminales en la yema apical; los colores son rojizos o blancos; el fruto es una cápsula de entre 2-2.5 cm de ancho (Turner *et al.*, 2005; Sosa-Segura *et al.*, 2014). Crece en tierras con alto nivel de salinidad (Nieves-Soto *et al.*, 2012). Esta especie es típica de los hábitats arenosos cerca de la costa, pero se encuentra dispersa a través del matorral costero. Las ramas gotean profusamente la savia cuando se cortan o se rompen, siendo una de las pocas plantas que el ganado no

tocará. Como resultado, la proliferación en la llanura costera es extremadamente común (Quattrocchi, 2012).

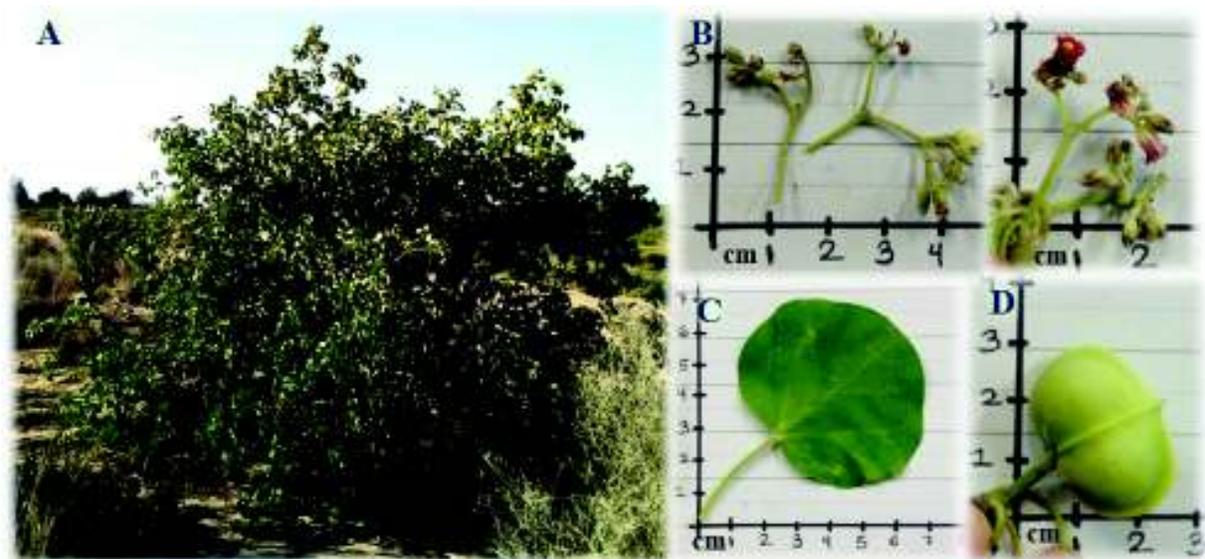


Figura 3. *Jatropha cinerea*. A) Arbusto, B) Inflorescencias, C) Hoja, D) Fruto.

J. cinerea es una especie con importancia ecológica, etnobiológica y ambiental; ecológicamente es clave al regular procesos de descomposición de la materia orgánica (Arriaga y Maya, 2007); es colonizadora de sitios perturbados, asociada con hongos micorrizas, que evitan erosión eólica y ayudan a la estabilización de suelos (Carrillo-García, 1999); es hospedera trófica y pupal del lepidóptero *Rothschildia cincta*, especie de importancia cultural para grupos humanos del noroeste de México y suroeste de EEUU (Márquez, 2013); por sus usos medicinales e industriales (Yetman y Van, 2002; Spjut y Marin, 2000).

Las etnias Seri y Mayos del Estado de Sonora utilizan diferentes partes de la planta para tratar varios padecimientos: se utiliza la raíz como infusión para tratar la diabetes y problemas de origen infeccioso en las vías urinarias, la savia se utiliza para limpiar los ojos, llagas bucales, hematomas, enfermedades del cuero cabelludo, abrasiones o cortadas, ampollas y llagas. Otras partes utilizadas son las ramas sin hojas y hojas por separado, para tratar dolores de muela, cataratas, diabetes, disentería y llagas en boca de infantes (Felger y Moser, 1974; Yetman y Vam, 2002). Además, los extractos alcohólicos de las hojas y tallo de *J.*

cinerea, han presentado potencial fungicida, al inhibir el crecimiento de *Penicillium chrysogenum* (Tequida-Meneses *et al.*, 2002) y esta especie es de uso forrajero ya que es considerada no tóxica (Medina, *et. al.* 2013). Adicionalmente, estudios recientes de las semillas reportan un importante contenido de aceite, principalmente ácidos oleico y linoleico, el cual representa el gran potencial de la especie, como fuente para la obtención de biodiesel; además, en la pasta de la semilla se identificaron los siguientes compuestos fenólicos: ácido benzoico, ácido cumárico, vanílico, gálico, cafeico, ferúlico, sinapico, epicatequina y quercetina (Lovio *et al.*, 2017).

I.9. Descripción botánica y usos de *Jatropha cordata* (Müll. Arg.)

Se le conoce con los nombres comunes de tree limberbush, copalfo, torote, papelio, miguelito. Es un árbol perenne que puede llegar a medir hasta 10 m de altura (Figura 4). Esta especie se encuentra distribuida en ambos lados del Golfo de California, en la península de Baja California, extendiéndose desde la isla Ángel de la Guarda, por una franja estrecha a lo largo de la costa, hasta San José del Cabo y de ahí a través de Sonora, Chihuahua, Sinaloa y Jalisco, en las regiones áridas y semiáridas de México y con presencia en estados del sur de Estados Unidos (Popham, 1947; Kane, 2006; Felger *et al.*, 2011). Generalmente se encuentra sobre pendientes, así como en planicies, en cerros rocosos y mesetas del centro y sur de Sonora, abunda en llanuras, valles, laderas y crestas en el Desierto de Sonora, matorral de espinas, bosque tropical caducifolio y ocasionalmente bosques de roble bajo, cerca del nivel del mar y hasta 1000 m de elevación, el límite norte de la distribución de esta especie está directamente relacionado con las temperaturas de congelación en invierno ya que no soporta temperaturas menores a -4 °C. Además, crece en periodos cortos y resiste las sequías (Sánchez-Mejía *et al.*, 2007; Fresnedo-Ramírez y Orozco-Ramírez, 2013). Una característica particular es el tallo del cual se desprende parte del peridermis, razón por la cual se le conoce como ‘Papelillo’ o ‘Torota’, que la hace única entre las especies de *Jatropha* en la región (González-Elizondo 2012). Las hojas poseen pecíolos delgados, 2-4.5 cm de largo, láminas anchamente ovadas a ovado-cordadas, el tamaño va de los 1.5-4.5 cm de ancho por 2.5-6 cm de largo, truncadas a someramente cordadas en la base, agudas y usualmente algo acuminadas en el ápice, someramente aserradas con una glándula corto-estipitada en la punta de cada aserración de 1-2

mm de largo, ambas superficies glabras, verde lustroso arriba más pálido abajo, palmadamente penta-nervada desde la base y estas aparecen con las lluvias de verano y son fuertemente secas, caducas en otoño, cuando pierde las hojas llega a confundirse con algunas especies de *Bursera* que se encuentran en la región sonoreense; sin embargo, la savia aromática de estas últimas, las diferencian fácilmente. Las brácteas son oblongas a estrechamente oblanceoladas hasta 1.5 cm de largo, las brácteas suelen ser conspicuamente glándular-estipitadas en los márgenes; sépalos estaminados 2-3 cm de ancho, angostamente ovados a espatulados, eglándulares o menos comúnmente esparcidamente glándular-ciliados; pétalos 4-5 mm de largo, color rosa; sépalos pistilados glándular-ciliados, acrescentes hasta 2 cm de largo. Su floración es de agosto a septiembre, los frutos son bi-tri-lobados o rara vez reducidos a un solo carpelo funcional, 10-12 mm de alto por 15-20 mm de ancho, grisáceos, glabros (Shreve y Wiggins, 1964). Las semillas son de forma ovoide y su tonalidad varía entre el negro y marrón claro, por lo general se encuentran dos semillas por fruto en estado de maduración, llega a medir de 9 a 10 mm y con un peso aproximado de 0.38 g (Medina-Juárez *et al.*, 2015).



Figura 4. *Jatropha cordata*. A) Árbol, B) Láminas que se desprenden del tallo, razón por la cual es llamada “papelillo” C) Hoja, D) Fruto.

Diferentes etnias del Estado de Sonora utilizan la raíz, savia, hojas y tallos para combatir enfermedades como la diabetes y dolor de muelas. Para enfermedades de encías y dientes, se utiliza en forma de cocción (raíz principalmente) en agua y se toma como agua de uso; para el dolor de muelas, se mastica un trozo del tallo, se succiona la savia y se tira el residuo. Las hojas y tallos son utilizados para curación de llagas, debilidad, enfermedades de encías y dientes (Johnson 1998).

En extractos metanólicos de la pasta de las semillas de *Jatropha cordata* se han reportado: ácido sinápico, cafeico, clorogénico y ferúlico, además de flavonoides como miricetina y quercitina. Presenta actividad antioxidante, atribuida principalmente a los compuestos fenólicos (Gámez-Meza *et al.*, 2013). En extractos metanólicos de hojas y tallo, se han encontrado flavonoides, taninos y alcaloides, además de compuestos fenólicos como el ácido cafeico, ácido cumárico, ácido gálico, ácido clorogénico y los flavonoides quercitina y luteonina (López-Teros 2018). La presencia de flavonoides y ácidos fenólicos en esta especie es de suma importancia ya que este grupo de compuestos tienen gran potencial antioxidante (Sharma *et al.*, 2016).

Por otro lado, se ha documentado, la utilización de la madera de *Jatropha cordata* por Mayos y Yaquis para tallar máscaras que son utilizadas en ceremonias tradicionales (Martin *et al.*, 1998).

JUSTIFICACIÓN

Existen diversos estudios sobre la caracterización fitoquímica de compuestos presentes en las especies del género *Jatropha* con propiedades medicinales. Sin embargo, de las especies *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*, que son ampliamente utilizadas en la medicina tradicional del Estado de Sonora, existen escasos estudios sobre el tipo de compuestos presentes, así como el efecto antioxidante y antibacteriano que pudieran presentar los extractos de hojas y tallos de ambas especies de *Jatropha*. Por tal razón, es importante caracterizar la composición fitoquímica de las hojas y tallos de ambas especies y evaluar su efecto biológico como agente antioxidante y antibacteriano.

PLANTEAMIENTO DE LA PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el efecto antioxidante y antibacteriano de los compuestos fenólicos presentes en los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*?

II. HIPÓTESIS

Los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* son ricos en compuestos fenólicos y presentan propiedades antioxidantes y antibacterianas en bacterias de interés clínico.

III. OBJETIVOS

III.1. Objetivo general

Caracterizar fitoquímicamente hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* y evaluar su efecto antioxidante y antibacteriano en bacterias patógenas de interés clínico.

III.2. Objetivos específicos

- Identificar y cuantificar los compuestos fenólicos presentes en los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*.
- Determinar la capacidad antioxidante *in vitro* de los extractos de hojas y tallos de ambas especies.
- Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* en bacterias Gram positivo y Gram negativo de interés clínico.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1. Material biológico

La colecta de ejemplares de ambas especies de plantas se llevó a cabo en la zona centro del Estado de Sonora. El muestreo fue realizado en 3 puntos diferentes (de acuerdo con la distribución específica que presenta cada especie (Figura 5). En cada punto se realizó un transecto de 1 km de longitud del cual se tomaron de 150 a 200 g de parte aérea de al menos 5 individuos diferentes, con una separación de al menos 200 m entre cada individuo.

Jatropha cinerea fue colectada en área costera de Bahía de Kino en el mes de agosto del año 2018; los tres puntos muestreados fueron: camino del rancho del padre (N 28°49.893', W111°56.286'), carretera Kino nuevo (N 28°49.831', W111°56.672') y carretera a Hermosillo (N28°48.665', W111°55.707'). Mientras que *Jatropha cordata* fue colectada en la periferia de la ciudad de Hermosillo en el mes de septiembre del año 2018; dos puntos corresponden a la parte norte en el Boulevard "Gustavo Mazón López" (N29°10.994', W110°55.846' y N29°13.378', W110°58.680') y el tercer punto corresponde a la periferia sur en el cerro "Las víboras" (N28°59.332', W110°56.597').

El material colectado se mantuvo en bolsas de papel, donde se dejó secar a temperatura ambiente y protegido de la luz.

IV.2. Preparación del material vegetal y extracto metanólico

Una vez seco el material colectado, se realizó la separación de hojas y tallos de cada una de las especies, manteniéndose cada punto de muestreo separado. Posteriormente el material fue molido utilizando una licuadora Osterizer Mixer (Oster modelo 4122, Ciudad de México) y se llevó a un tamaño de partícula de 500 µm y se almacenó en bolsas de plástico protegidas de la luz y humedad.



Figura 5. Puntos de muestreo de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*.

El extracto se preparó tomando 1 g de muestra al cual se le agregaron 10 mL de metanol-agua (70:30, v/v), se homogenizó con Vortex y posteriormente el homogenizado fue sometido a ultrapulsos por 30 min (Sonic 1510 R-DTH, Branson Ultrasonics Corporation, CT, EE. UU.). Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a 3000 g, a 4 °C durante 15 min (centrífuga IEC CL3 IR, Thermo Electron Industries SAS, Francia). La extracción metanólica se realizó en la oscuridad a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) y el proceso fue repetido dos veces, obteniéndose un volumen final de 20 mL por gramo de muestra. Los sobrenadantes se filtraron a través de papel Whatman N° 2 y fueron concentrados en un evaporador rotatorio bajo presión reducida a 40 °C, posteriormente el extracto fue liofilizado hasta su completa sequedad. Finalmente, los extractos en peso seco se almacenaron a -20 °C, sellados con

Parafilm y protegidos de la luz hasta su análisis (Chitindingu *et al.*, 2006, Molina-Quijada *et al.*, 2010).

IV.3. Análisis cualitativo de los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*

La determinación de los metabolitos presentes en los extractos metanólicos de la parte aérea de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* se realizó a través de un fraccionamiento consecutivo mediante lavados con hexano, acetato de etilo, etanol y metanol (solventes de menor a mayor polaridad). Después de haber sido concentrados los extractos metanólicos en un evaporador rotatorio bajo presión reducida a 40°C se les agregaron 50 mL de cada solvente, generando una fracción por solvente. Finalmente, todas las fracciones de los extractos de cada especie de *Jatropha* fueron almacenadas a -20 °C protegidas de la luz hasta su análisis.

La caracterización cualitativa del perfil fitoquímico se llevó a cabo por métodos estandarizados (Apéndice 1) (Janaki *et al.*, 2018). Se realizaron 14 pruebas fitoquímicas cualitativas para determinar la presencia de 9 grupos de metabolitos secundarios: alcaloides, glicósidos, cumarinas, taninos, esteroides, quinonas, saponinas, fenoles y flavonoides.

Los resultados se interpretaron como presencia (+) y ausencia (-) de los grupos de metabolitos analizados en las fracciones de los extractos.

IV.4. Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos

El procedimiento para la identificación de los compuestos fenólicos de los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* se realizó de acuerdo con el método descrito por Cantos *et al.* (2000) modificado.

El análisis del perfil analítico fue realizado con un equipo de cromatografía de HPLC Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies 1260 Infinity, México), equipado con un detector de arreglo de diodos, la separación fue realizada en una columna Supelcosil TM LC18 (30 × 0.4 cm × 5 mm tamaño de partícula, Supelco, Bellefonte, PA, USA) con un gradiente de solventes A (ácido fórmico al 5%) y B (metanol grado HPLC). El flujo volumétrico fue de 1

mL/min. El volumen de inyección de los extractos de cada especie fue el siguiente: para los extractos de tallos se inyectaron 50 μ L y la duración de lectura fue de 55 min, mientras que para hoja se inyectaron 20 μ L y la duración de lectura fue de 60 min. La manipulación de los extractos se realizó en condiciones de oscuridad.

La identificación de los compuestos fenólicos se llevó a cabo comparándolos con el tiempo de retención y espectros de absorción de 17 estándares comerciales; ácidos 4-hidroxibenzoico, cafeico, clorogénico, gálico, gentísico, *p*-cumárico, sinápico, siríngico y vanílico; apigenina, catequina, epicatequina, epigallocatequina galato, luteolina, miricetina, quercetina y resveratrol.

Para la cuantificación se realizaron curvas de calibración utilizando diferentes concentraciones de cada estándar, graficando el área de amplitud de la señal del estándar contra la concentración (mg/mL) y a partir de la ecuación de la recta obtenida se calculó la concentración de cada analito presente en los extractos de hojas y tallos para ambas especies.

IV.5. Identificación de compuestos fenólicos mediante espectrometría de masas

Para la identificación y confirmación de los compuestos fenólicos de los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*, se realizaron inyecciones de 10 μ g/mL por infusión directa a un espectrómetro de masas con electrospray y trampa de iones (FIA-ESI-IT-MS/MS, Varian 500 MS, Santa Clara, CA, EUA). El modo de análisis fue de ionización negativa, utilizando nitrógeno, como gas nebulizador y helio como gas de colisión. El intervalo de análisis fue de 100-2000 m/z. Los iones negativos de los compuestos fenólicos se obtuvieron bajo un flujo de infusión de 10 μ g/mL, voltaje de -17 kV, una temperatura de capilar de 350 °C y un flujo de gas auxiliar de 1 mL/min. La manipulación del extracto se realizó en condiciones de oscuridad.

IV.6. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales

IV.6.1. Fenoles totales

El contenido de fenoles totales en los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* se obtuvo mediante la metodología utilizada por Nayak et al., (2016). En una placa de 96 pocillos, se colocaron 30 μL de los extractos y se agregaron 150 μL de reactivo diluido de Folin-Ciocalteu en cada pocillo y se incubó a temperatura ambiente por 3 min. Después se agregaron 300 μL de carbonato de sodio y se incubó por 30 min a temperatura ambiente en oscuridad. Finalmente, se realizó la lectura de las absorbancias a 765 nm usando un espectrofotómetro. El contenido de compuesto fenólico se determinó como equivalentes de ácido gálico, utilizando la ecuación lineal basada en la curva de calibración.

IV.6.2. Flavonoides totales

El contenido total de flavonoides de los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*, se determinó utilizando un método colorimétrico modificado utilizado por Attia et al., (2019). El cual se llevó a cabo en tubos, donde se agregaron 2 mL de los extractos y se mezclaron con 300 μL de NaNO_2 (5%), se dejó reposar durante 6 min, luego se agregaron 300 μL de AlCl_3 (10%) y se dejó reposar durante 1 minuto. Posteriormente se agregó 1 mL de NaOH (4%) y se añadió agua desionizada inmediatamente hasta llevar el volumen final a 6 mL. De esta mezcla, se agregaron 300 μL de cada tubo a una placa de 96 pocillos, para realizar la lectura de la absorbancia a una λ máxima de 510 nm. Para la cuantificación se realizó una curva de calibración de quercetina y se reportó en equivalentes de quercetina por gramo de muestra.

IV.7. Evaluación del efecto antioxidante

El efecto antioxidante de los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* fue evaluado mediante dos técnicas de ensayo basadas en la transferencia de

electrones individuales (SET), las cuales implican una reacción redox única, siendo el oxidante el indicador para la medición del punto final (Tan y Lim, 2015).

IV.7.1. Ensayo con el radical 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolín-6-sulfonato de amonio)

Para evaluar el efecto antioxidante de los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* mediante el método espectrofotométrico en reacción con el radical 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolín-6-sulfonato de amonio) (ABTS), (Surco-Laos *et al.*, 2016). Se preparó una solución con el radical ABTS y persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$) utilizando como disolvente agua destilada, la cual se dejó reposar por 12 h, a temperatura ambiente y protegida de la luz. Transcurrido el tiempo de incubación, se ajustó la absorbancia del radical a 0.680 ± 0.02 a 734 nm. En una microplaca de 96 pocillos se agregaron 25 μ L de los extractos a 225 μ L de la solución preparada previamente. Se dejó incubar durante 5 min a temperatura ambiente y protegido de la luz y se realizó la lectura de la absorbancia a 734 nm. Se usó metanol al 70% como un blanco, una solución de ABTS sin extracto como control y como antioxidante de referencia se utilizó Trolox. El efecto antioxidante se calculó en porcentaje de inhibición mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{(A \text{ control} - A \text{ muestra})}{A \text{ control}} (100)$$

donde:

% I es el= porcentaje de Inhibición del radical ABTS.

A muestra es la absorbancia de la muestra a 734 nm.

A control es la absorbancia del control (ausencia del antioxidante).

IV.7.2. Ensayo con el radical 2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

El potencial de captación de radicales por 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) de los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* se realizó de acuerdo con la metodología seguida por Elosaily *et al.* (2019) y se tomó como una medida de la

actividad antioxidante. Se preparó una solución al 0.004% de radical DPPH en metanol (70%) y se almacenó en la oscuridad hasta su utilización. El experimento se llevó a cabo en microplacas de 96 pocillos. Donde, a cada pocillo se agregaron 20 µL de cada muestra y a éstos se les agregaron 180 µL de solución DPPH. Las mezclas de reacción resultantes se mantuvieron a temperatura ambiente y en oscuridad, durante 30 min. Finalmente se midió la absorbancia de cada muestra en un lector de microplaca a 520 nm. Se usó metanol al 70% como un blanco, una solución de DPPH sin extracto como control y como antioxidante de referencia se utilizó Trolox. El efecto antioxidante se calculó en porcentaje de inhibición mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{(A \text{ control} - A \text{ muestra})}{A \text{ control}} (100)$$

Donde:

% I es el= porcentaje de Inhibición del radical DPPH.

A muestra es la absorbancia de la muestra a 515 nm.

A control es la absorbancia del control (ausencia del antioxidante).

IV.8. Evaluación del efecto antibacteriano frente a los extractos

El análisis del efecto antibacteriano de los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* se llevó a cabo de acuerdo con las metodologías, cepas de referencia y estándares recomendados por el Instituto de Estándares de Laboratorios Clínicos (CLSI, 2015, EE. UU): *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, bajo condiciones de esterilidad por ello se trabajó en Campana de Bioseguridad nivel 2 (Labconco, Modelo 3621304 Delta, Kansas, EUA).

IV.8.1. Preparación del inóculo y extractos

De acuerdo con los estándares recomendados por la CLSI (2015) para el análisis de susceptibilidad de agentes antibacterianos, se realizó la incubación de las cepas bajo las siguientes condiciones:

Se utilizaron colonias cultivadas previamente durante 24 h en agar Nutritivo a 37 °C. Posteriormente se tomaron de 3 a 4 colonias de este inóculo y fueron suspendidas en caldo de cultivo Mueller Hinton (MH) y se incubó durante 24 h a 37 °C. Antes de cada ensayo se realizó el ajuste de la densidad celular bacteriana por medio de turbidez y densidad óptica, empleando el estándar de 0.5 de la escala de McFarland y realizando lecturas de la densidad óptica (DO) de 0.08-0.12 a 625 nm que corresponden aproximadamente a 1.5×10^8 UFC/mL. Únicamente para el ensayo de microdilución, a partir del ajuste de la densidad celular bacteriana se realizó un ajuste posterior llevando a 5×10^5 UFC/mL de concentración final en cada pocillo de la microplaca. Ambos ajustes del inóculo se utilizaron dentro de los primeros 15 min después de su preparación.

Se analizaron concentraciones desde 0.012 a 1000 mg/mL de peso seco de los extractos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* y como disolvente se utilizó dimetilsulfóxido (DMSO) al 5%. Para cada ensayo se prepararon soluciones concentradas (soluciones madre) de los extractos y a partir de ellas se realizaron las diluciones necesarias, protegidas de la luz.

IV.8.2. Técnica de difusión en disco

En la técnica de difusión en disco se inocular la superficie de una placa de agar con el microorganismo de prueba y se coloca un disco de papel filtro con el antibiótico o extracto a diferentes concentraciones. Cuando el microorganismo comienza a reproducirse, se visualiza la zona de inhibición donde una concentración particular del antibiótico o extracto es capaz de inhibir el crecimiento del microorganismo (Goldman y Green 2015).

Una vez realizado el ajuste de la densidad celular bacteriana a 1.5×10^8 UFC/mL, este fue sembrado en placas Petri de 150 mm de grosor con agar MH, donde se agregaron 100 μ L de la suspensión bacteriana en el borde de la placa y a partir de ahí la suspensión bacteriana fue

distribuida de manera uniforme con ayuda de un hisopo estéril, como un barrido a través de toda la placa Petri girándola 90° cuatro veces para obtener una distribución más homogénea de las bacterias (Figura 6). Transcurridos 2 min después de la siembra se colocaron en posiciones equidistantes 4 discos (por placa) de papel Whatman N°154 (diámetro de 6 mm), impregnados con 10 µL del extracto de hojas de *Jatropha cordata* (los ensayos fueron iniciados con un solo extracto, siendo éste el más prometedor de acuerdo con los resultados obtenidos de la caracterización fitoquímica de los compuestos presentes) a diferentes concentraciones (0.25 a 250 µg/mL). Posteriormente, las placas Petri fueron incubadas a 37 °C de 24 h a 48 h. Finalmente, se realizaron mediciones de los halos de inhibición. Los controles positivos utilizados para *E. coli* ATCC25922 fueron gentamicina y penicilina, mientras que para *S. aureus* se utilizó gentamicina dado que esta cepa contiene el gen de resistencia a la penicilina. Como control negativo se utilizó DMSO.

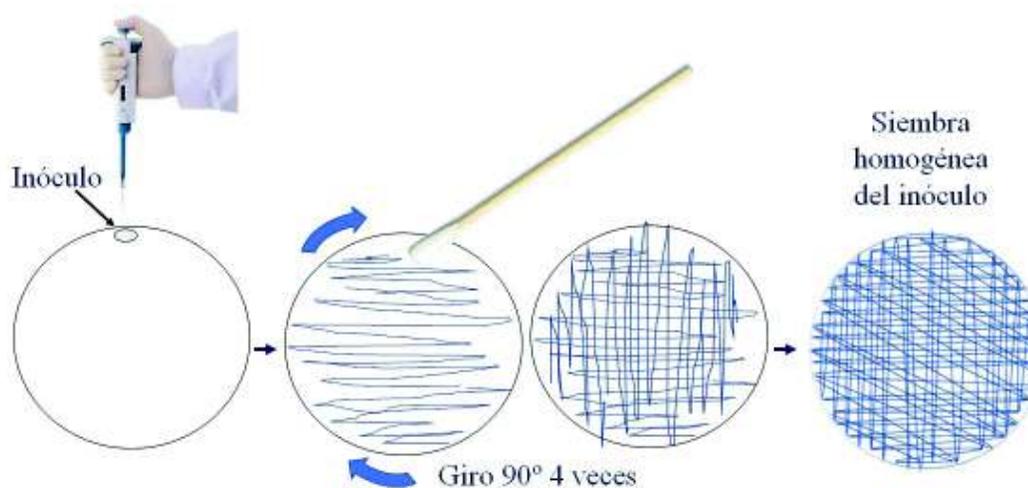


Figura 6. Sembrado del inóculo bacteriano en placa Petri para el análisis de la susceptibilidad antibacteriana frente a los extractos.

La interpretación de los resultados se realizó de manera visual de acuerdo con la comparación de la zona de inhibición producida por el extracto con respecto a la zona de

inhibición producida por el antibiótico control. Apoyándose en las tablas de CLSI de la zona de inhibición del antibiótico control y se realizaron tres réplicas biológicas por triplicado.

IV.8.3. Técnica de macrodilución en caldo

El análisis de susceptibilidad con el extracto de hojas de *Jatropha cordata* (extracto con los mejores resultados del análisis fitoquímico) mediante la técnica de macrodilución en caldo se llevó a cabo de acuerdo con el Instituto de Estándares de Laboratorios Clínicos (CLSI, 2015), de la siguiente forma: Se prepararon tubos estériles de 13×100 mm con un volumen final de 2 mL, del cual 1 mL correspondió a caldo Mueller Hinton con diferentes concentraciones del extracto y 1 mL correspondió al inóculo de *S. aureus*, la suspensión obtenida fue suavemente homogenizada y los tubos fueron incubados a 37 °C durante 24 h. Como controles se prepararon un tubo con inóculo bacteriano sin extracto y otro tubo con sólo medio de cultivo. Finalmente, cada tubo se analizó visualmente con respecto a los tubos control y aquel tubo de menor concentración donde no se presentó crecimiento bacteriano a simple vista se consideró como la concentración del extracto donde las bacterias fueron susceptibles.

Preparación del inóculo bacteriano de *S. aureus*: una vez realizado el ajuste de la densidad celular bacteriana a 1.5×10^8 UFC/mL, se realizó una dilución posterior a 1×10^6 UFC/mL de acuerdo con la dilución final (1:2) en un volumen de 2 mL, la concentración bacteriana en cada tubo fue de 1×10^5 UFC/mL.

IV.8.4. Técnica de microdilución

El análisis de susceptibilidad de las cepas bacterianas frente a los extractos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* mediante la técnica de microdilución se llevó a cabo de acuerdo con el Instituto de Estándares de Laboratorios Clínicos (CLSI) y es denominado “microdilución” porque implica el uso de pequeños volúmenes de caldo de cultivo (lo que permite un análisis más amplio y completo en un espacio pequeño) en microplacas de cultivo celular estériles de fondo redondo o cónico (CLSI, 2015). El análisis fue llevado a cabo de la siguiente forma: en microplacas de 96 pocillos de fondo plano se colocaron 100 µL de medio

de cultivo Mueller-Hinton y se agregaron 100 μ L del extracto de mayor concentración a la primera fila de pocillos correspondientes a extractos de hojas y tallos de cada especie por separado (Figura 7) y se realizaron diluciones seriadas de cada extracto en la microplaca, debido a esto cada extracto fue preparado en DMSO al 5%, 3 veces más concentrado. Posteriormente, fueron agregados 100 μ L de cada inóculo bacteriano a cada pocillo, además como controles positivos se utilizaron gentamicina y penicilina, como control negativo se colocaron pocillos únicamente con medio de cultivo e inóculo, así como un control con DMSO al 5% e inóculo.

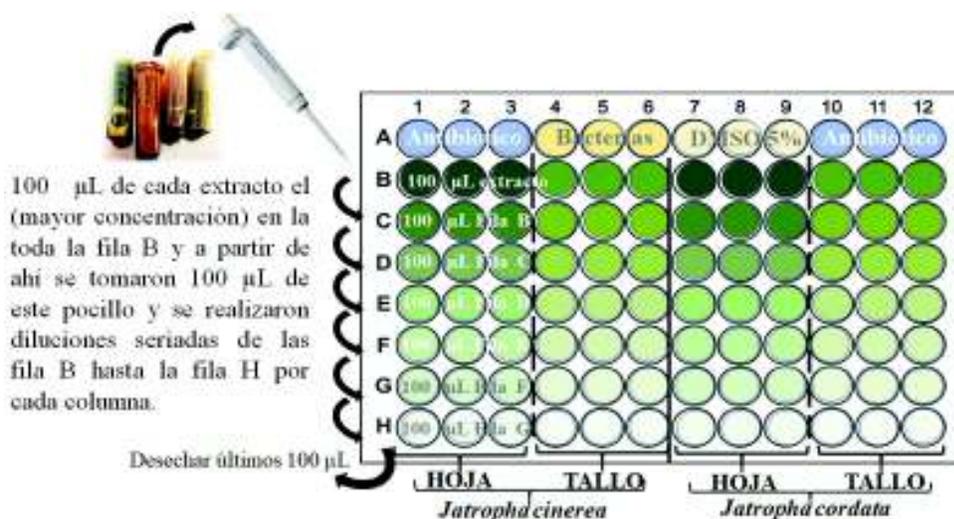


Figura 7. Preparación de las concentraciones de los extractos de hojas y tallos de ambas especies de *Jatropha* en la microplaca.

La preparación de los inóculos bacterianos de *S. aureus* y *E. coli* se llevó a cabo ajustando la densidad celular bacteriana a 1.5×10^8 UFC/mL, posteriormente se realizó una dilución a 1×10^6 UFC/mL, para obtener una densidad bacteriana final de 1×10^5 UFC/mL por pocillo de la microplaca en un volumen de 200 μ L.

Finalmente, las microplacas (una microplaca de 96 pocillos por cada cepa de bacteria) fueron incubadas a 37 °C durante 24 h. Transcurridas las 24 h de incubación, a cada microplaca le fueron agregados 25 μ L de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTZ) por pocillo y

se incubó por 1 hora a 37 °C. El TTZ es un indicador redox usado que indica la respiración celular diferenciando tejidos metabólicamente activos de aquellos metabólicamente inactivos. El compuesto incoloro es reducido enzimáticamente a 1,3,5-trifenilformazán, o simplemente formazán, de color rojo, en las células vivas debido a la actividad de las deshidrogenasas.

Para la interpretación de los resultados se consideró la concentración más baja con ausencia de color rojo proporcionada por la solución TTZ como la concentración mínima del extracto inhibitoria para las bacterias. Se tomaron fotografías en 3 tiempos diferentes para realizar la comparación visual: al inicio de la incubación es decir al tiempo 0 h, 24 h después y posterior a la incubación con el indicador, cada ensayo se realizó por triplicado.

IV.9. Análisis estadístico

Los datos de todos los ensayos fueron sometidos a pruebas de normalidad y homocedasticidad y se presentaron como la media de triplicados de las determinaciones correspondientes \pm desviación estándar. Las diferencias significativas entre medias se evaluaron por análisis de varianza (ANOVA), seguido por comparaciones contra control usando la prueba de diferencias mínimas significativas de Tukey. Las diferencias se consideraron significativas cuando $p < 0.05$, con la ayuda del software R Studio.

V. RESULTADOS

V.1. Análisis cualitativo de los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*

De acuerdo con el muestreo realizado para la obtención del material vegetal de ambas especies se obtuvo el siguiente rendimiento en peso seco en promedio de los 3 puntos muestreados (Apéndice 2): de tallos de *Jatropha cinerea* se obtuvieron 206 g y de hojas 122 g, mientras que para *Jatropha cordata* se obtuvo un rendimiento promedio de tallos de 292 g y en hojas de 198 g.

Con la finalidad de conocer los grupos de metabolitos secundarios presentes en los extractos metanólicos de la parte aérea (hojas y tallos) de ambas especies, se llevó a cabo el fraccionamiento de éstos, utilizando solventes con diferentes polaridades y a cada una de las fracciones se le realizaron pruebas fitoquímicas cualitativas específicas para la detección de los principales grupos de metabolitos secundarios. De las 14 pruebas realizadas para la detección de 9 grupos de metabolitos secundarios, se encontró que la mayoría de los compuestos estaban presentes en las fracciones alcohólicas (etanol y metanol), esto para ambas especies (Tabla 1).

En las fracciones etanólica y metanólica del extracto de la parte aérea de *Jatropha cinerea* se detectó la presencia de flavonoides, fenoles, cumarinas y taninos, mientras que en los extractos de *Jatropha cordata* se encontraron presentes flavonoides, fenoles y taninos.

En las fracciones de hexano y acetato de etilo (fracciones de solventes con menor polaridad), en *Jatropha cinerea* se encontró la presencia de esteroides y únicamente la fracción de acetato de etilo resultó positiva para cumarinas, mientras que para *Jatropha cordata* en la fracción con hexano se encontró la presencia de esteroides y en la fracción de acetato de etilo se encontraron taninos.

Tabla 1. Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos metanólicos de la parte aérea de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*.

Fitoquímicos	<i>Jatropha cinerea</i>				<i>Jatropha cordata</i>			
	H	AE	E	M	H	AE	E	M
Flavonoides	-	-	+	+	-	-	+	+
Fenoles	-	-	+	+	-	-	+	+
Cumarinas	-	+	+	+	-	-	-	-
Saponinas	-	-	-	-	-	-	-	-
Esteroles	+	+	-	-	+	-	-	-
Taninos	-	-	+	+	-	+	+	+
Alcaloides	-	-	-	-	-	-	-	-
Quinonas	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicósidos	-	-	-	-	-	-	-	-

(+) Presente, (-) Ausente. Solventes; H: hexano, AE: acetato de etilo, E: etanol y M: metanol.

En base a los resultados del análisis fitoquímico cualitativo, realizado para los extractos metanólicos de la parte aérea de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*, es que se decidió utilizar únicamente extractos alcohólicos para los posteriores análisis cromatográficos.

Además, se confirmó que los extractos metanólicos de la parte la parte aérea de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* son ricos en compuestos fenólicos.

V.2. Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos

Una vez que se confirmó que los extractos alcohólicos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* fueron los más ricos en compuestos fitoquímicos, se procedió a identificarlos y cuantificarlos y así conocer las diferencias en el perfil fitoquímico de extractos etanólicos y metanólicos (ambos al 70%). Los resultados mostraron que ambos extractos presentaban el mismo perfil de compuestos. Sin embargo, la amplitud de las señales detectadas en las mismas longitudes de onda fue mayor en los extractos metanólicos. Por lo tanto, para ambas especies, la identificación y cuantificación de moléculas fenólicas, así como los posteriores ensayos biológicos, se realizaron utilizando como solvente de extracción metanol al 70% (70:30 v/v).

En el extracto metanólico de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* analizados por HPLC-DAD se logró la cuantificación de 10 compuestos (Tabla 2).

De los extractos del tallos de *Jatropha cinerea* se lograron cuantificar 10 compuestos fenólicos, de los cuales 7 fueron ácidos fenólicos (ácido 4-hidroxibenzoico, cafeico, gálico, gentísico, *p*-cumárico, siríngico y ácido vanílico) y 3 fueron flavonoides (apigenina, epicatequina y quercetina), mientras que en los extractos de hojas fueron cuantificados 6 compuestos de los cuales 5 fueron ácidos fenólicos (ácido 4-hidroxibenzoico, cafeico, gálico, gentísico y ácido *p*-cumárico) y un flavonoide (apigenina) (Tabla 2).

De los extractos de tallos de *Jatropha cordata* se lograron cuantificar 9 compuestos fenólicos, de los cuales 6 fueron ácidos fenólicos (ácido 4-hidroxibenzoico, cafeico, gálico, gentísico, sinápico y vanílico) y 3 fueron flavonoides (apigenina, epicatequina y quercetina) mientras que de los extractos de hojas fueron cuantificados 7 compuestos de los cuales 5 fueron ácidos fenólicos (ácido 4-hidroxibenzoico, cafeico, gálico, gentísico y ácido *p*-cumárico) y dos fueron flavonoides (apigenina y quercetina) (Tabla 2).

Estos resultados muestran que en ambas especies de *Jatropha* en los extractos de tallos los compuestos fenólicos de mayor concentración son flavonoides mientras que para los extractos de hoja las moléculas presentes en mayor concentración corresponden a ácidos fenólicos.

Comparando los extractos de ambas especies, *Jatropha cordata* fue la que contó con la mayor concentración de compuestos fenólicos, con respecto a *Jatropha cinerea*. Fue el ácido gentísico con una concentración de 834.62 µg/g, el ácido fenólico de mayor concentración y la quercetina con una concentración de 577.98 µg/g como el flavonoide más abundante en los extractos de esta especie. En los extractos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea*, el ácido fenólico más abundante fue el ácido gentísico con una concentración de 634.55 µg/g y la epicatequina con 230.05 µg/g como el flavonoide más abundante de los extractos de esta especie.

De los 10 compuestos diferentes que fueron cuantificados de los extractos metanólicos de hojas y tallos de ambas especies de *Jatropha*, el ácido gálico fue el compuesto que se encontró siempre presente, tanto en tallos como hoja de ambas especies, aunque en diferentes

concentraciones, siendo en los extractos de hojas donde se encontró en mayor concentración. Mientras que epicatequina y quercetina fueron los dos flavonoides encontrados en los extractos de tallos de ambas especies de *Jatropha*.

V.3. Identificación de compuestos fenólicos mediante espectrometría de masas

Una vez realizado el análisis de los compuestos presentes en los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* mediante HPLC-DAD, se llevó a cabo la comprobación de la identificación de los mismos por infusión directa en un espectrofotómetro de masas con electrospray en modo de ionización negativa y trampa de iones, donde se logró la identificación de acuerdo al peso molecular y quiebres estructurales de las moléculas de cada compuesto fenólico presente en los extractos, la confirmación se realizó comparándolos con estándares puros y por búsqueda en referencias bibliográficas. En la Tabla 3 se enlistan los compuestos fenólicos identificados en hojas y tallos, para cada una de las especies de *Jatropha* analizadas.

Gracias al análisis realizado por espectrofotometría de masas se logró la caracterización de los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*. Donde para cada especie se logró identificar 8 y 9 compuestos fenólicos adicionales a los ya identificados y cuantificados por HPLC-DAD, respectivamente. De estos compuestos el ácido 3,4-Dihidroxibenzoico, el catecol y la isovitexina fueron los que se encontraron presentes en tallos y hoja de ambas especies. Mientras que en los extractos de hojas de ambas especies el ácido tánico fue el compuesto que se encontró presente en común y en los extractos de tallos fue la epicatequina el flavonoide en común entre las dos especies. Además, de las dos especies analizadas, los extractos de *Jatropha cordata* fueron los que presentaron mayor número de compuestos diferentes, con respecto a *Jatropha cinerea*.

Tabla 2. Identificación y cuantificación por HPLC-DAD/MS [$\mu\text{g/g}$ muestra] de los compuestos fenólicos presentes en los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*

Compuestos	<i>Jatropha cinerea</i>		<i>Jatropha cordata</i>	
	Hojas	Tallos	Hojas	Tallos
Ácido 3,4-Dihidroxybenzoico ^o	-	-	-	-
Ácido 4-Hidroxybenzoico ^o	60.34 \pm 0.50*	35.97 \pm 0.10*	75.74 \pm 0.89*	22.09 \pm 0.62*
Ácido cafeico ^o	61.27 \pm 0.10*	22.19 \pm 0.10*	58.75 \pm 0.31*	50.49 \pm 0.31*
Ácido elágico	ND	ND	ND	-
Ácido gálico ^o	261.68 \pm 0.40*	113.77 \pm 0.60*	284.45 \pm 1.27*	215.31 \pm 1.19*
Ácido gentísico ^o	634.55 \pm 1.80*	26.91 \pm 0.40*	864.62 \pm 5.24*	14.6 \pm 0.21*
Ácido <i>p</i> -cumárico ^o	175.27 \pm 0.40*	62.98 \pm 0.50*	123.91 \pm 0.13*	-
Ácido sinápico ^o	ND	ND	ND	12.44 \pm 0.12*
Ácido siríngico ^o	ND	39.15 \pm 0.60*	ND	ND
Ácido tánico	-	ND	-	ND
Ácido vanílico ^o	ND	38.48 \pm 0.10*	ND	40.81 \pm 0.80*
Apigenina ^o	148.06 \pm 1.30*	94.18 \pm 1.80*	343.54 \pm 2.96*	87.61 \pm 1.46*
Apigenina-7-O-rutinosido	-	ND	ND	ND
Catecol	-	-	-	-
Epicatequina ^o	ND	230.05 \pm 4.60*	ND	90.16 \pm 6.79*
Hidrato de rutina	ND	ND	-	-
Isovitexina	-	-	-	-
Pirogalol	ND	ND	ND	-
Quercetina ^o	ND	198.52 \pm 0.20*	238.12 \pm 1.63*	573.98 \pm 2.11*
Rhoifolin	-	ND	ND	ND
Rutina	ND	-	-	-
Vitexina	-	ND	-	-

* Diferencias significativas $p < 0.05$. $n=9$. ^o Identificados con estándares puros. ND: No Detectado. - No Cuantificado.

Tabla 3. Compuestos fenólicos identificados de los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*, por medio de ESI-IT-MS/MS.

COMPUESTOS	ION PRECURSOR		ION FRAGMENTOS ESI-MS ^N (m/z)	<i>Jatropha cinerea</i>		<i>Jatropha cordata</i>	
	[M-H] ⁻ -m/z			HOJAS	TALLOS	HOJAS	TALLOS
Ácido 3,4-Dihidroxybenzoico	153		109, 153, 108	*	*	*	*
Ácido 4-Hidroxibenzoico ^o	137		92, 93, 136, 137	*	*	*	*
Ácido cafeico ^o	179		135	*	*	*	*
Ácido elágico	301		300.9, 229, 257	*	*	*	*
Ácido gálico ^o	169		125	*	*	*	*
Ácido gentísico ^o	153		109	*	*	*	*
Ácido <i>p</i> -cumárico ^o	163		119	*	*	*	*
Ácido siríngico ^o	197		182, 153	ND	*	ND	ND
Ácido sinápico ^o	223		164, 179	ND	ND	ND	*
Ácido tánico	1700		1700	*	*	*	*
Ácido vanílico ^o	167		157, 123, 108	ND	*	ND	*
Apigenina ^o	269		269, 227, 150, 117	*	*	*	*
Catecol	109		108, 91	*	*	*	*
Epicatequina ^o	289		245,205,179	ND	*	ND	*
Apigenin-7-O-rutinoside	577		269, 577	*	ND	ND	ND
Hidrato de rutina	609		301, 151	ND	ND	*	*
Isovitexina	431		311, 341, 413	*	*	*	*
Pirogalol	125		124, 125	ND	ND	ND	*
Quercetina ^o	301		151, 179	ND	*	*	*
Rhoifolin	577		577.1, 269, 268	*	ND	ND	ND
Rutina	609		301, 179,151	ND	*	*	*
Vitexina	431		311,341	*	ND	*	*

^oComparados con estándares comerciales. ND: No detectados. *Detectados.

V.4. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales

Se realizó la determinación del contenido de fenoles y flavonoides totales de los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* (Tabla 4) por medio de técnicas espectrofotométricas. Donde, como se esperaba el contenido de fenoles totales fue mayor con respecto al contenido de flavonoides totales, de los extractos de hojas y tallos de ambas especies. Además, los extractos de hojas de ambas especies contienen mayor concentración de fenoles y flavonoides totales, con respecto a los extractos de tallos.

Comparando las dos especies de *Jatropha*, fue en *Jatropha cordata* donde los extractos de hojas y tallos presentaron mayor contenido de fenoles y flavonoides totales.

V.5. Evaluación del efecto antioxidante

Se determinó el efecto antioxidante de los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*, mediante dos métodos colorimétricos espectrofotométricos: ABTS y DPPH que emplean la sal de diamonio 2,2'-difenílpicrilhidrazil y 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) respectivamente. En ambos métodos, la capacidad antioxidante del extracto se determina, de acuerdo con los cambios en las absorbancias de los radicales comerciales, éstos deben ser estables y generar color (DPPH; color morado y ABTS; color azul), el grado de reducción del radical coloreado durante la reacción con el antioxidante se mide entre 515-517 nm en el caso del método con DPPH y a 734-744 nm en el ensayo con ABTS (Olszowy y Dawidowicz, 2018).

De acuerdo con las longitudes de onda en las que se encontraron los compuestos fenólicos presentes en los extractos metanólicos de ambas especies de *Jatropha* (las cuales no fueron mayores a 390 nm) la utilización de estos dos métodos es adecuada, así que por medio de estos se determinó la capacidad que tienen los extractos metanólicos de estabilizar los radicales empleados en cada uno de ellos y los resultados fueron expresados como porcentaje de inhibición (Tabla 4).

De acuerdo con los dos radicales utilizados, los extractos de hojas y tallos de ambas especies presentaron mayor porcentaje de inhibición para DPPH. Además, *Jatropha cordata* fue la especie que presentó mayor capacidad antioxidante, con respecto a *Jatropha cinerea*.

Los extractos metanólicos de hoja de ambas especies de *Jatropha* son los que presentan mayor capacidad antioxidante con respecto a los extractos de tallos de acuerdo con la metodología ABTS. Sin embargo, en *Jatropha cinerea* no hubo diferencias significativas en la capacidad antioxidante de los extractos entre hojas y tallos determinada por medio de la metodología DPPH.

Con respecto al contenido de fenoles y flavonoides totales que fue cuantificado de los extractos de hojas y tallos de las dos especies de *Jatropha*, *Jatropha cordata* fue la que presentó mayor contenido de fenoles totales con 153.39 mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/g de muestra en los extractos de tallos y 215.63 mg EAG/g de muestra en los extractos de hoja y mayor contenido de flavonoides totales con 7.41 mg EQ/g de muestra en los extractos de tallo y 18.55 mg EQ/g de muestra en los extractos de hojas, con respecto a *Jatropha cinerea* (Tabla 4). De la misma forma, el porcentaje de inhibición de los radicales analizados fue mayor en los extractos de hojas y tallos de *Jatropha cordata*, razón por la cual se le atribuye mayor capacidad antioxidante a esta especie. Por otra parte, entre tallo y hoja de ambas especies son los extractos de hoja los que presentan un mayor contenido de fenoles y flavonoides totales con respecto a tallos y de igual forma la actividad antioxidante es mayor en los extractos de hojas con respecto a tallos.

Tabla 4. Contenido de fenoles y flavonoides totales y efecto antioxidante de los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*.

	<i>Jatropha cinerea</i>		<i>Jatropha cordata</i>	
	Hojas	Tallos	Hojas	Tallos
Fenoles totales (mg EAG/g)	82.65 ±1.65*	62.02 ±2.80*	215.63 ±3.62*	153.39 ±2.91*
Flavonoides totales (mg EQ/g)	11.30 ±0.13*	3.27 ±0.11*	18.55 ±0.23*	7.41 ±0.14*
ABTS (%Inhibición)	14.63 ±3.12*	8.08 ±0.63*	54.12 ±1.71*	47.86 ±1.48*
DPPH (%Inhibición)	22.16 ±0.341	21.67 ±1.54	77.73 ±0.90*	73.58 ±0.91*

*Diferencias significativas $p < 0.05$. $n = 6$

V.6. Evaluación del efecto antibacteriano

Se realizó el análisis la evaluación de la susceptibilidad con los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P mediante las metodologías, cepas de referencia y estándares recomendados por el Instituto de Estándares de Laboratorios Clínicos (CLSI, 2015, EE. UU).

V.6.1. Técnica de difusión en disco

De acuerdo con la metodología recomendada para la técnica de difusión en disco, se llevó a cabo el análisis de susceptibilidad de los extractos iniciando los ensayos biológicos con el extracto de hojas de *Jatropha cordata* frente a *E. coli* y *S. aureus* ATCC 6538P, debido a que fue el extracto que presentó mayor cantidad de compuestos caracterizados en el análisis fitoquímico, además de ser el extracto con mayor efecto antioxidante con respecto a los otros extractos, por ello en el primer ensayo se evaluó el extracto a 15.6, 31.2, 62.5, 125 y 250 mg/mL de peso seco del extracto y como disolvente se utilizó DMSO al 5 y 7% esto con el fin de evaluar las diferencias del disolvente a diferentes proporciones. Transcurrido el tiempo de incubación, bajo ninguna de las concentraciones fue posible analizar de manera representativa el halo de inhibición y con ello clasificar alguna concentración como inhibitoria. Al ser el

primer ensayo realizado, se requirió de mejorar, el manejo y manipulación de la técnica, dado que la siembra del inóculo en las placas no se observó de manera uniforme, en algunas placas se observó un pequeño halo de inhibición, sin embargo, éste no pudo ser considerado favorablemente positivo dado a su forma irregular con respecto a los controles (Figura 8). Además, de acuerdo con las concentraciones del DMSO empleado como disolvente para los extractos, no se observó diferencia entre 5 y 7% del mismo y en las concentraciones más elevadas del extracto se observó la perfusión del extracto en el agar ya que los extractos a estas concentraciones presentan coloración amarillenta fuerte y la disolución del extracto no fue del todo homogénea, este comportamiento observado para ensayos con ambas cepas bacterianas.

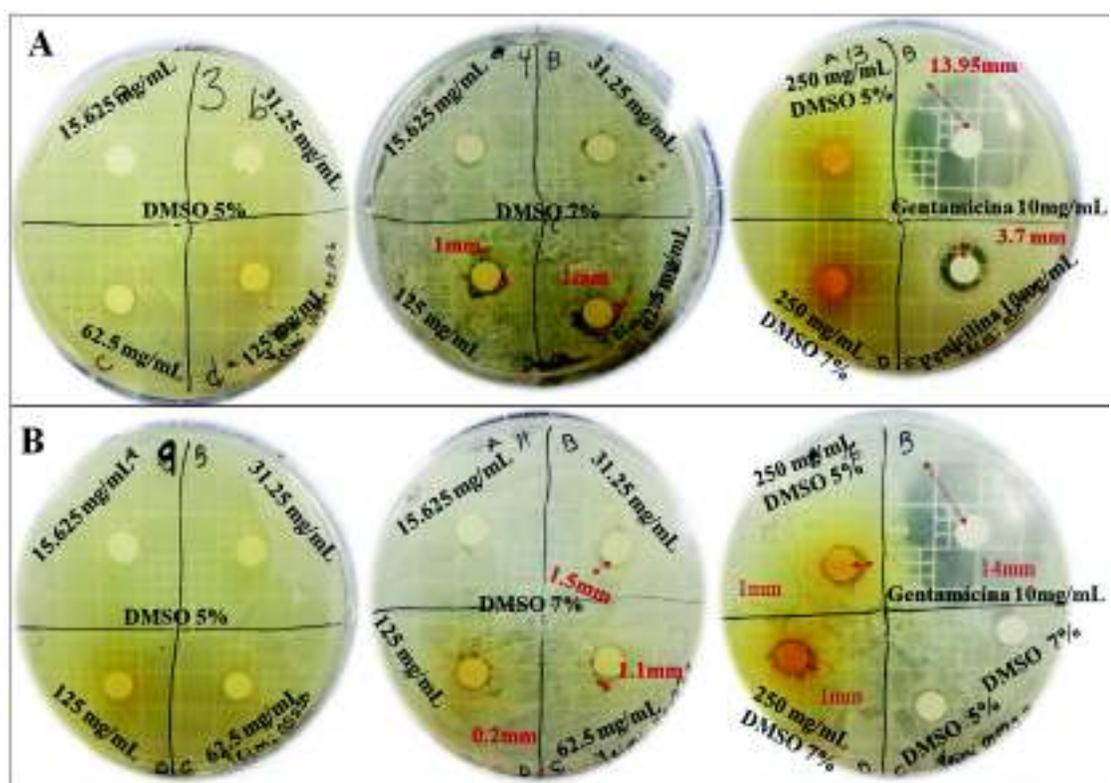


Figura 8. Primer ensayo de susceptibilidad bacteriana del extracto metanólico de *Jatropha cordata* (15.625 a 250 mg/mL de peso seco), mediante la técnica de difusión en disco. A: frente a *E. coli*. B: frente a *S. aureus*.

Posteriormente se probaron las concentraciones del extracto metanólico de 0.48, 0.97, 1.9, 3.9, 7.8, 15.6 mg/mL de peso seco de hojas de *Jatropha cordata* y antes de ser colocadas en los discos de papel filtro y con el fin de mejorar la disolución de las diferentes concentraciones del extracto, estas fueron sometidas a sonicación durante 1 hora, al observar que no había diferencias entre el DMSO al 5 y 7% en este ensayo únicamente se utilizó DMSO al 5% y las observaciones se realizaron a las 12, 24 y 48 h de incubación. Sin embargo, a pesar de que en algunas concentraciones probadas se observó crecimiento bacteriano tenue alrededor del disco impregnado con el extracto, este no fue suficiente para poder determinar las concentraciones como inhibitorias, estas zonas se encuentran señaladas en la Figura 9 con flechas color rojo cuyas medidas van de 1.0 a 3.3 mm, además en la concentración de 7.8 mg/mL de peso seco del extracto señalado en la Figura 9 (B, D y F) con un círculo amarillo, se observó área sin crecimiento bacteriano la cual por su forma irregular no fue considerada como halo de inhibición. En cuanto al tiempo de incubación de ambas especies de bacterias no hubo cambios con respecto a los controles a las 12, 24 y 48 h de observación.

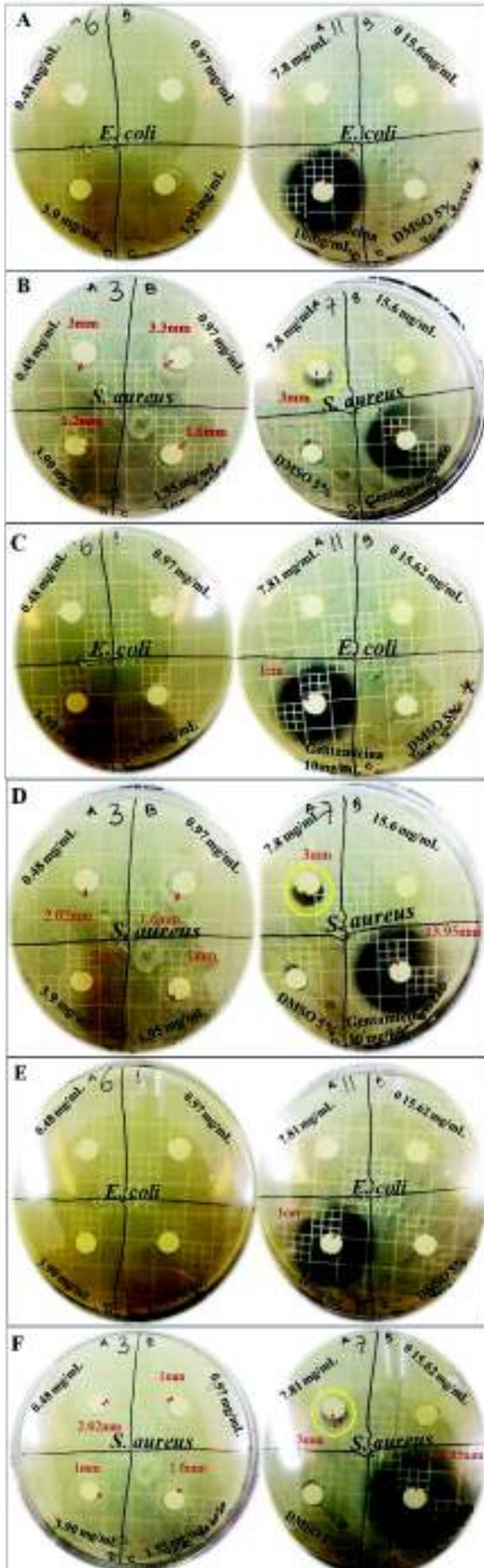


Figura 9. Segundo ensayo de susceptibilidad bacteriana del extracto metanólico de *Jatropha cordata* (0.48 a 15.6 mg/mL de peso seco), mediante la técnica de difusión en disco. A: *E. coli*, 12 h de incubación. B: *S. aureus* a las 12 h de incubación. C: *E. coli* a las 24 h de incubación. D: *S. aureus* a las 24 h de incubación. E: *E. coli* a las 48 h de incubación. F: *S. aureus* a las 48 h de incubación. Flechas en color rojo: zonas con crecimiento bacteriano tenue con respecto al crecimiento uniforme en la placa Petri y su respectiva medición en mm. En círculos amarillos: concentración con zona adyacente al disco con el extracto sin crecimiento bacteriano con respecto al crecimiento uniforme en la placa.

Se realizó un tercer ensayo donde se analizaron concentraciones de 0.25, 0.5, 0.7, 1, 1.5, 2, 4, 8, 16, 31.25, 62.5, 125, 250 mg/mL de peso seco del extracto de hojas de *Jatropha cordata*. Una vez realizado el ajuste de la densidad celular bacteriana a 1.5×10^8 UFC/mL, se realizó una dilución a 1×10^6 UFC/mL, con el fin de visualizar algún cambio en la uniformidad del inóculo en la placa Petri. A demás cada concentración fue sonicada durante 3 h cuidando que la temperatura del agua contenida en el sonicador no se elevara a más de 20°C. Ambas especies de bacterias fueron analizadas frente a cada extracto en medio de cultivo Mueller-Hinton, sin embargo, para determinar el comportamiento de los extractos en otro agar, se probó únicamente la especie de *S. aureus* con agar nutritivo analizando concentraciones de 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, mg/mL de peso seco del extracto. Se realizaron observaciones a las 12 y 24 h de incubación, donde se encontró que en la densidad celular no fue suficiente para cubrir completamente de manera uniforme la placa Petri, este efecto fue más notorio al realizar las observaciones a las 12 h (Figura 10- A, B y C). Con respecto a ambos agares probados (Mueller-Hinton y agar nutritivo) el agar Mueller-Hinton fue donde se mostró mejor y mayor crecimiento de *S. aureus*, por lo que las pruebas siguientes se llevaron a cabo únicamente en agar Mueller-Hinton. En la Figura 10 se observan todas las concentraciones analizadas a las 12 h (A, B y C) y 24 h (D, E y F) h de incubación y en ninguna de ellas se observó área sin crecimiento bacteriano suficiente para determinar alguna de las concentraciones como inhibitoria, únicamente en *E. coli* en las concentraciones de 2.5 y 3 mg/mL de peso seco, como se observó área sin crecimiento bacteriano el cual no es posible tomar como halo de inhibición (Figura 10).

Un cuarto ensayo fue realizado donde se analizaron concentraciones de 25, 50, 100, 150, 200 y 250 mg/mL de peso seco de planta, éste se llevó a cabo en agar Mueller-Hinton y, se utilizó el inóculo a una densidad bacteriana de 1.5×10^8 UFC/mL. De acuerdo con los resultados obtenidos en el último ensayo únicamente se evaluó a *E. coli* y las observaciones fueron hechas a las 24 h de incubación. En este ensayo se evaluaron concentraciones del extracto más elevadas, en la Figura 11 en la concentración de 250 mg/mL se observa un punto color marrón en el disco indicando la poca solubilidad del extracto en el DMSO al 5%, además es notoria la perfusión del extracto en el agar cuando aumentan las concentraciones evaluadas.

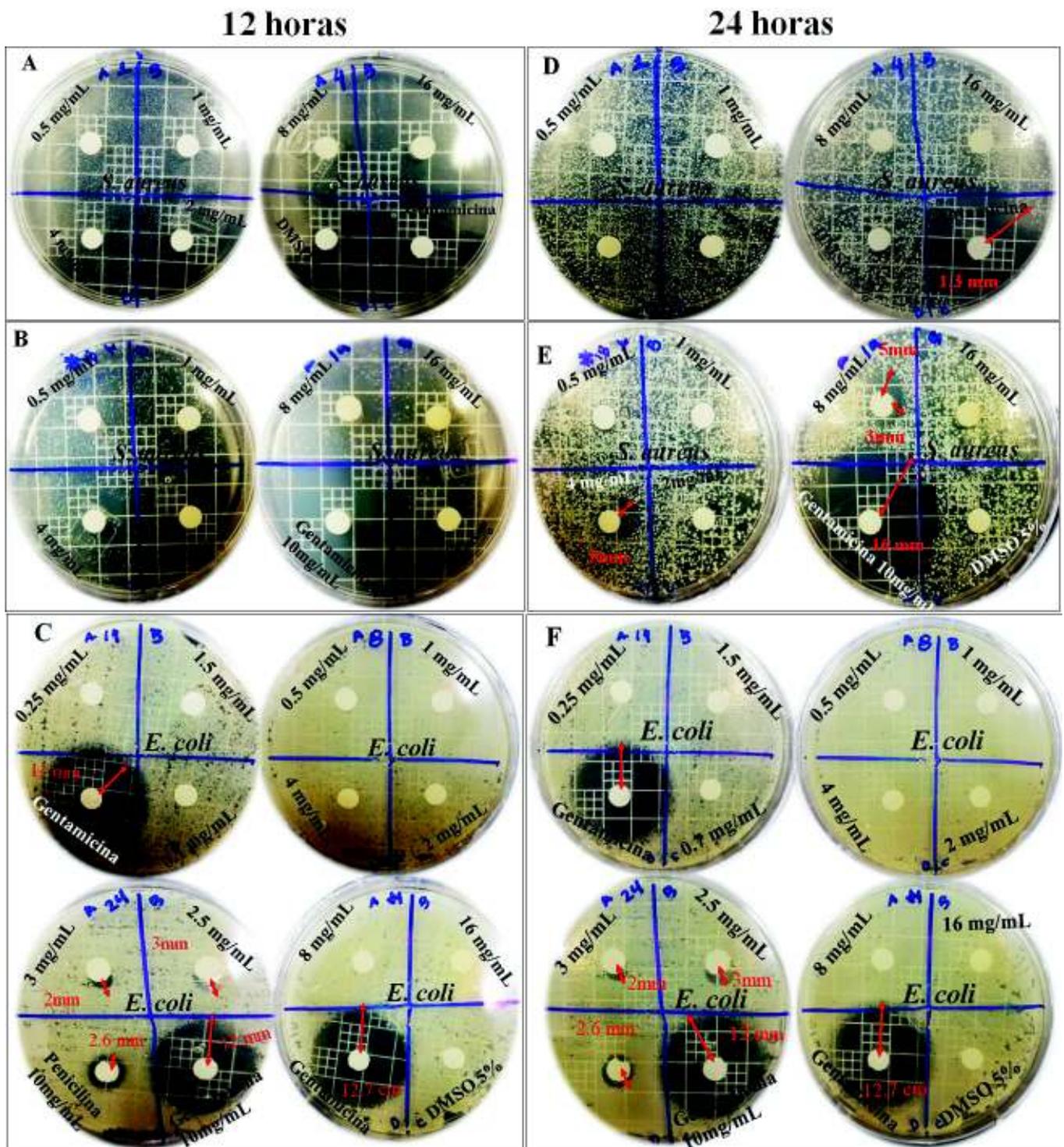


Figura 10. Tercer ensayo de susceptibilidad bacteriana con el extracto metanólico de *Jatropha cordata* (0.25 a 250 mg/mL de peso seco), mediante la técnica de difusión en disco. A: *S. aureus* a las 12 h de incubación, en agar nutritivo. B: *S. aureus* a las 12 h de incubación en agar Mueller-Hinton. C: *E. coli* a las 12 h de incubación. D: *S. aureus* a las 24 h de incubación en agar nutritivo. E: *S. aureus* a las 24 h de incubación en agar Mueller-Hinton. F: *E. coli* a las 24 h de incubación. Flechas en color rojo: indican las zonas sin crecimiento bacteriano y su respectiva medición en mm.

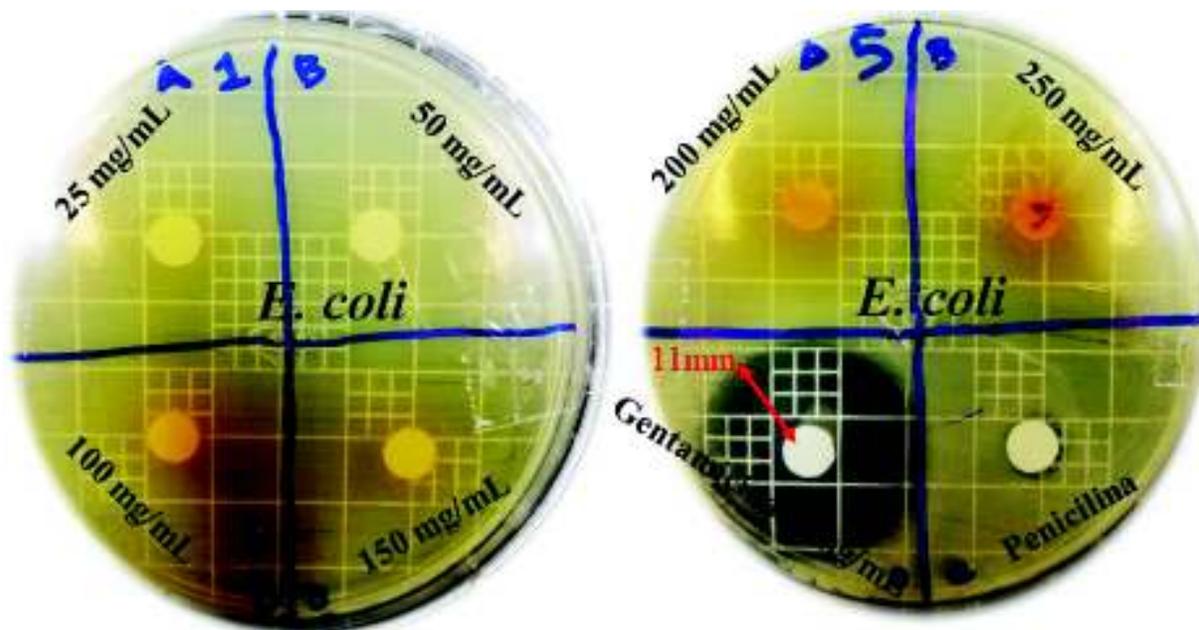


Figura 11. Cuarto ensayo de susceptibilidad bacteriana con el extracto metanólico de *Jatropha cordata* (25 a 250 mg/mL de peso seco), mediante la técnica de difusión en disco. Se evaluó la susceptibilidad de *E. coli* a las 24 h de incubación con los extractos. Flechas en color rojo: indican las zonas sin crecimiento bacteriano y su respectiva medición en mm.

Un quinto ensayo fue realizado donde, fueron evaluadas concentraciones de 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 25, 50, 100, 150, 200 y 250 mg/mL de peso seco de planta frente a *E. coli*, en agar Mueller-Hinton y se utilizó el inóculo a una densidad bacteriana de 1.5×10^8 UFC/mL, en un periodo de 24 h de incubación. Además, las placas se dejaron reposar media hora a 4°C, esto con el fin evitar o mejorar las áreas sin crecimiento bacteriano, las cuales no pueden ser determinadas como halo de inhibición, comportamiento observado en algunas concentraciones de los ensayos anteriores. Sin embargo, a pesar de haber mejorado la perfusión del extracto en el agar al dejar reposar durante 30 min las placas a 4°C en ninguna de las concentraciones analizadas fue posible observar halo de inhibición. Además, en las concentraciones más elevadas (a partir de 100 mg/mL de peso seco del extracto) el extracto no se solubiliza eficientemente en el DMSO, inclusive a 250 mg/mL pueden observarse puntos de color marrón correspondientes a la parte insoluble del extracto (Figura 12).

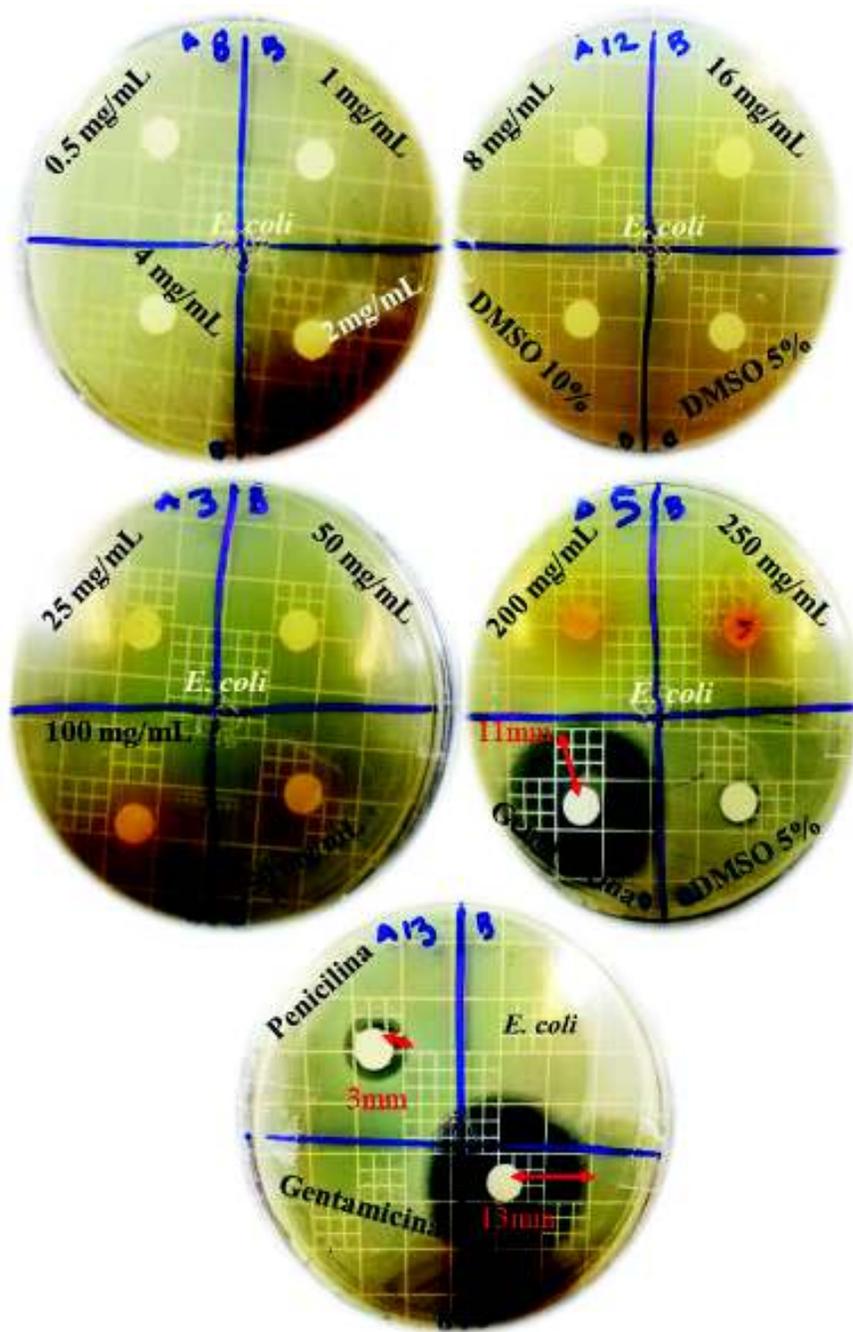


Figura 12. Quinto ensayo de susceptibilidad bacteriana con el extracto metanólico de *Jatropha cordata* (0.5 a 250 mg/mL de peso seco), mediante la técnica de difusión en disco. Se evaluó la susceptibilidad de *E. coli* a las 24 h de incubación con los extractos. Flechas en color rojo: indican las zonas sin crecimiento bacteriano y su respectiva medición en mm.

Finalmente, un último ensayo (sexto) fue realizado, donde se analizaron concentraciones de 1, 8, 16, 25, 50, 100, 150, 200 y 250 mg/mL de peso seco de planta frente a *E. coli*, en agar Mueller-Hinton y se utilizó el inóculo a una densidad bacteriana de 1.5×10^8 UFC/mL en un periodo de 24 h de incubación. De acuerdo con la poca solubilidad del extracto en el DMSO al 5% se optó disolverlo en etanol al 50 y 70%. Se añadieron controles únicamente de etanol (50 y 70%) sin extracto para evaluar el efecto citotóxico que podría tener el etanol como disolvente, sin embargo, éste no influyó en el efecto del extracto (Figura 13-C), a pesar de que el extracto fue completamente soluble en el etanol y la perfusión de este en el agar mejoró, ninguna de las concentraciones inhibió el crecimiento bacteriano alrededor del disco de papel (Figura 13).

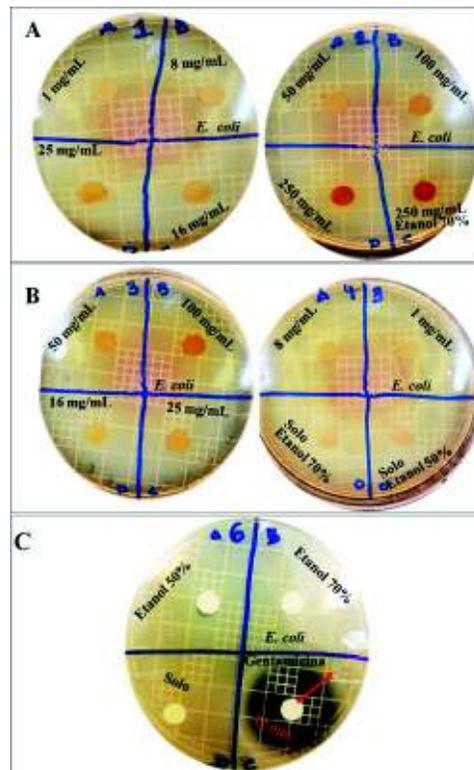


Figura 13. Sexto ensayo de susceptibilidad bacteriana con el extracto metanólico de *Jatropha cordata* (1 a 250 mg/mL de peso seco), mediante la técnica de difusión en disco. Se evaluó la susceptibilidad de *E. coli* a las 24 h de incubación con los extractos disueltos en etanol. A: concentraciones del extracto disueltas en etanol al 50%. B: concentraciones del extracto disuelto en etanol al 70%. C: Controles. Flechas en color rojo: indican las zonas sin crecimiento bacteriano y su respectiva medición en mm.

V.6.2. Técnica de macrodilución en caldo

A demás, de evaluar el extracto de hojas de *Jatropha cordata* frente a *S. aureus* y *E. coli* mediante la técnica de difusión en disco se llevó a cabo el análisis del extracto a 0.24, 0.48, 0.97, 1.95, 3.90, 7.81, 15.62, 31.25, 62.5, 125 y 250 mg/mL de peso seco frente a *E. coli* las 24 h por medio de la técnica de macrodilución, con el fin de analizar la solubilidad del extracto en el medio de cultivo ya que esta técnica no requiere que el extracto se encuentre previamente disuelto en algún solvente, puede analizarse directamente. Para determinar si las bacterias son susceptibles al extracto, estos fueron comparados con los controles, donde ninguna de las concentraciones analizadas mostró efecto inhibitorio sobre el crecimiento bacteriano. Además, mediante esta técnica se determinó que a partir de la concentración de 15.62 mg/mL solamente en las concentraciones decrecientes fue posible visualizar la turbidez ocasionada por el crecimiento bacteriano con respecto al tiempo cero de incubación (Figura 14-B) debido a que las concentraciones del extracto más elevadas saturaron el medio de cultivo por lo cual no fue posible observar presencia o ausencia de turbidez (Figura 14).

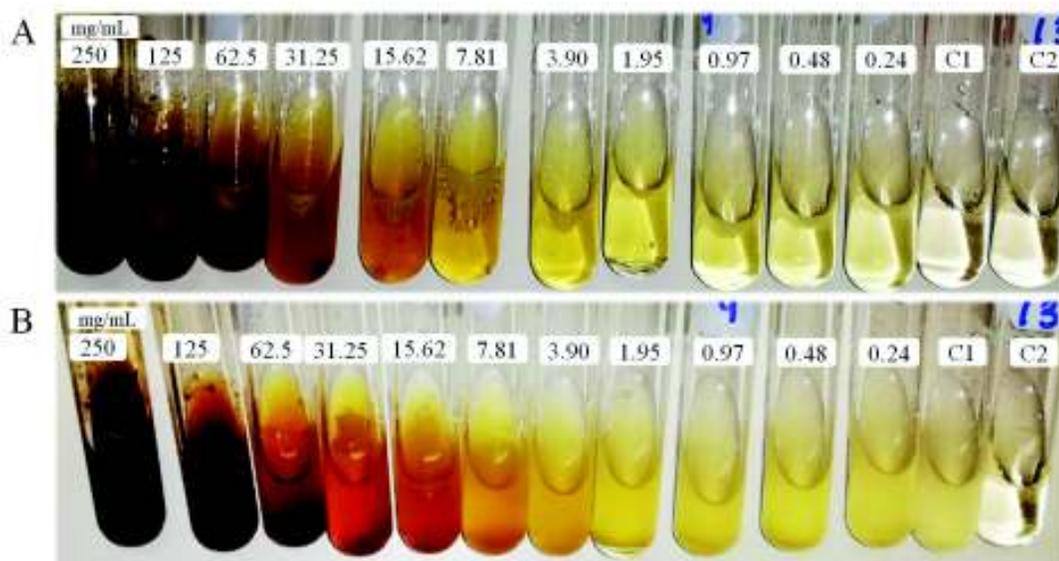


Figura 14. Susceptibilidad bacteriana frente al extracto metanólico de hojas de *Jatropha cordata* (0.24 a 250 mg/mL de peso seco) de *E. coli* mediante la técnica de macrodilución en caldo. A: observación antes de incubar, B: después de 24 h de incubación, C1: control con bacterias sin extracto, C2: control con medio de cultivo sin bacterias ni extracto.

V.6.3. Técnica de microdilución

Mediante la técnica de microdilución en microplacas de 96 pocillos se evaluaron las concentraciones de 0.012, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.25, 2.5, 5, 10, 62.5, 125, 250, 500, 1000 mg/mL de los extractos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* frente a *E. coli*, utilizando caldo Mueller-Hinton, el extracto fue disuelto en DMSO al 5%. De acuerdo con el indicador redox utilizado para evaluar respiración bacteriana la concentración con ausencia de color rojo proporcionada por la solución TTZ se estableció como la concentración inhibitoria, sin embargo, en ninguna de las concentraciones evaluadas fue posible observar inhibición del crecimiento bacteriano con los extractos, la tendencia del extracto fue que para las concentraciones superiores a partir de los 62.5 mg/mL de peso seco del extracto se observó turbidez y coloración en el medio de cultivo emitida por la saturación en las concentraciones del extracto con respecto al medio, dificultando la evaluación colorimétrica de éstas concentraciones (Figura 15-C), mientras que en las concentraciones de 0.8 a 1 mg/mL de los extractos de hojas y tallos de ambas especies de *Jatropha* la coloración rojiza fue más débil (Figura 15-A y B); sin embargo, para ser considerado como antibacteriano o con efecto inhibitorio es necesario que no exista coloración alguna. A demás, se tomaron fotografías de las microplacas en el tiempo cero (antes de incubar), después de las 24 h de incubación antes de agregarle el indicador y después de incubarla con el indicador, donde en todas las concentraciones analizadas incluso antes de agregar el indicador se observaba turbidez, indicando crecimiento bacteriano.

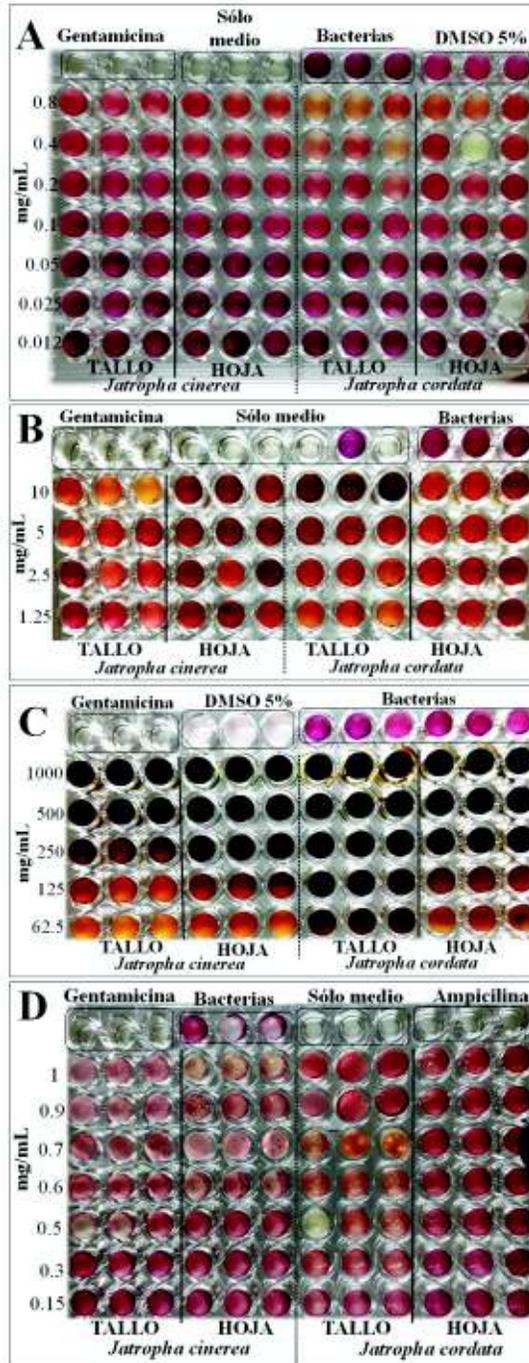


Figura 15. Susceptibilidad bacteriana con los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* (0.012 a 1000 mg/mL de peso seco) frente a *E. coli* y *S. aureus* mediante la técnica de microdilución. A: extractos frente a *E. coli*, B: extractos frente a *E. coli*, C: extractos frente a *S. aureus*.

VI. DISCUSIÓN

Las plantas han sido utilizadas durante miles de años en la medicina tradicional, por ser una fuente natural de productos químicos bioactivos. Tal es el caso de las especies pertenecientes al género *Jatropha*. Sin embargo, sólo pocas especies de este género han sido evaluadas químicamente. De las 175 especies de *Jatropha*, solamente 21 han sido químicamente estudiadas (Cavalcante *et al.*, 2020).

Por tal razón resultaba necesario el estudio fitoquímico de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*, de los cuales existen reportes de su amplia utilización por grupos étnicos del Estado de Sonora para uso medicinal (Yetman *et al.*, 2002).

Los resultados de la caracterización fitoquímica cualitativa de extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*, muestran alta presencia de compuestos fenólicos en ambas especies en las fracciones alcohólicas (Tabla 1). Los solventes alcohólicos son ampliamente utilizados para extraer compuestos de plantas empleadas con fines medicinales (Mointero *et al.* 2019). Por otro lado, en otras especies pertenecientes al género *Jatropha*, se han reportado perfiles fitoquímicos cualitativos semejantes al que presentan los extractos metanólicos de la parte aérea de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*. Dias *et al.* (2019), encontraron presentes fenoles, flavonoides y taninos en las fracciones alcohólicas (etanol y metanol) de extractos de hoja de *J. mollissima*, especie que se distribuye en regiones semiáridas de Brasil. Además, para *J. curcas* que es la especie modelo del género (originaria de México), se reportó que sus extractos alcohólicos eran ricos en compuestos fenólicos (Rebecca *et al.*, 2016; Oyama *et al.*, 2016).

El análisis por HPLC-DAD de los extractos metanólicos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* (Tabla 3) mostró un perfil fitoquímico similar al reportado en extractos metanólicos de *J. curcas* (ácido gálico, catequina, rutina, ácido cumárico, ácido ferúlico, cumarinas, luteolina y genisteína) (El-Baz *et al.*, 2014). Por otro lado, Cavalcante *et al.* (2020) reportó una gran variedad de metabolitos secundarios encontrados en diferentes órganos de las especies de *Jatropha*, principalmente flavonoides: apigenina, catequina, epigallocatequina, isovitexina, vitexina y algunas cumarinas.

Uno de los compuestos fenólicos que se encontró presente en hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* fue el ácido gálico. Es sabido que, a pesar de ser un compuesto fenólico ampliamente estudiado debido a sus propiedades biológicas e industriales, es sorprendente que ni la enzimología de la formación de ácido gálico, ni la ubicación subcelular de su síntesis y almacenamiento estén exactamente definidas. Sin embargo, Alscher y Hess (2017) describen 4 vías principales de biosíntesis del ácido gálico, donde mencionan que éste puede ser acumulado en diferentes órganos de las plantas debido a reacciones enzimáticas que inhiben y reducen el flujo de carbono hacia las vías que conducen a los aminoácidos aromáticos.

El perfil fitoquímico varía en cada parte de las plantas (hojas, tallos y semillas). Esto puede estar dado por la especialización que tiene cada uno de estos órganos para cumplir su función fisiológica en la planta y la relación de los fenoles con ella. (Carvalho *et al.*, 2013). La identificación de compuestos fenólicos en hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* (Tabla 3), muestran que el contenido de estos metabolitos depende del órgano y la especie.

Para determinar estas diferencias entre el contenido de compuestos fenólicos de ambas especies en cada órgano de las plantas, es necesario no solamente utilizar una metodología que nos permita cuantificar e identificar los compuestos por tiempo de retención y longitud de onda comparándolos con estándares comerciales, como es realizado por HPLC-DAD, sino también es necesaria la confirmación de los compuestos presentes en los extractos metanólicos de ambas especies por espectroscopia de masas ya que es la única técnica que determina el peso molecular a través de la fragmentación de las moléculas que se quieren identificar (Sharmin y Zafar, 2017). Por lo cual es importante no solo considerar el análisis de los compuestos fenólicos para su identificación por HPLC-DAD, sino que es necesaria la confirmación de éstos; por ello, se realizó la caracterización completa de los compuestos presentes en los extractos, como se observa en la Tabla 3 donde se encuentran presentes los compuestos fenólicos identificados, confirmados y cuantificados por HPLC-DAD y los compuestos identificados por ESI-IT-MS/MS.

Los resultados obtenidos en el análisis de fenoles y flavonoides totales (Tabla 4), muestra que la hoja es el órgano que presenta el mayor contenido de estos compuestos, para ambas especies.

El-Baz *et al.*, (2014) en el extracto metanólico de hojas de *J. curcas* reportaron un contenido inferior de fenoles y flavonoides totales con respecto a los que obtuvimos para *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*. El mismo comportamiento fue reportado para extractos de tallos de *J. curcas* por Othman *et al.* (2015). Por otro lado, Dias *et al.* (2019) reportaron un contenido de fenoles totales de 245.12 mg EAG/g en extractos metanólicos de hojas de *J. mollissima*, en contraste, en los extractos de *Jatropha cinerea* en hojas y tallos se obtuvieron concentraciones de 62.0. y 82.65 mg EAG/g de muestra respectivamente, mientras que para *Jatropha cordata* se reporta una concentración de fenoles totales para hojas y tallos de 153.39 y 215.63 mg EAG/g de muestra respectivamente. Estas diferencias se deben a la influencia del clima y otros factores externos, que afectan a la síntesis de estos metabolitos secundarios (Jain *et al.*, 2013; Rampadarath *et al.*, 2014). De la misma manera, el perfil de compuestos fenólicos puede variar inclusive en una misma especie debido a diferentes factores, como el genotipo, estado fenológico de la planta y tiempo de cultivo (Ali *et al.*, 2014; Verman *et al.*, 2015). Estas evidencias podrían justificar las diferencias encontradas en los compuestos fenólicos presentes e identificados, la concentración de cada uno de ellos, el contenido de fenoles y flavonoides totales y el efecto antioxidante de los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*, dos especies adaptadas a condiciones climáticas y ecológicas completamente diferentes.

En el análisis del efecto antioxidante se observó que los extractos de hoja de ambas especies son los que presentan mayor capacidad antioxidante. Esto muestra una correlación con el contenido de compuestos fenólicos (Tabla 4).

La diferencia observada en la actividad antioxidante de los extractos metanólicos de hojas y tallos entre *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata* (Tabla 4), puede ser atribuida a la presencia y concentración de los compuestos fenólicos presentes en estos. El contenido de fenoles y flavonoides totales, en los extractos de hoja de ambas especies, mostró una correlación positiva con sus actividades antioxidantes (Tabla 4). Los compuestos fenólicos tienen gran capacidad para donar uno o más de sus electrones adicionales a los radicales libres

y son excelentes secuestradores de radicales libres. Además, los flavonoides, poseen sustituyentes dihidroxílicos en posiciones 3' y 4' en el anillo B, por lo que se muestran más activos como antioxidantes (Banjarnahor y Artanti, 2014).

La determinación del efecto antioxidante varía dependiendo de las técnicas espectrofotométricas con las cuales es analizado. En el presente trabajo, el efecto antioxidante fue analizado por medio de dos técnicas del mecanismo SET (Transferencia de electrones simples): ABTS y DPPH. Como se observó, el porcentaje de inhibición fue diferente para ambos radicales (Tabla 4). Esto puede deberse a las propiedades físicas y químicas de los extractos alcohólicos, el sistema de solvente utilizado y el pH al que se realiza el ensayo, todos estos pudiendo dar lugar a diferentes cinéticas y reacciones secundarias (Tan y Lim, 2015).

Con el fin de evaluar la actividad biológica *in vitro* que pudiesen tener los extractos metanólicos de ambas especies de *Jatropha* los cuales fueron fitoquímicamente caracterizados y que gracias a este estudio se conocen los principales compuestos presentes, se llevó a cabo la evaluación de la susceptibilidad de *S. aureus* y *E. coli* frente a los extractos, analizándose concentraciones bajas, medias y altas mediante tres técnicas microbiológicas diferentes, por medio de las cuales no fue posible determinar la susceptibilidad de estas especies de bacterias frente a los extractos.

La técnica de difusión en disco es la técnica oficial para determinar la susceptibilidad antimicrobiana en los laboratorios de microbiología clínica por medio de ésta se determina a qué concentraciones es susceptible una cepa frente a antibióticos específicos, donde se mide el halo de inhibición generado por el antibiótico en el agar con el inóculo microbiano. Sin embargo, no es posible saber de manera precisa las concentraciones mínimas inhibitorias de los extractos, únicamente proporciona un acercamiento al rango de concentraciones susceptibles (Balouiri *et al.*, 2016), por lo que fue necesario analizar los extractos mediante una técnica donde se evaluara de manera integral todos los extractos de ambas especies de *Jatropha* frente a ambas bacterias al mismo tiempo. La susceptibilidad fue evaluada en medio de cultivo líquido mediante la técnica de macro y microdilución para poder analizar una gama de concentraciones más completa. A pesar de que el extracto mejoró la solubilidad en el medio de cultivo, no fue posible establecer las concentraciones con efecto antibacteriano y/o inhibitorio para las cepas estudiadas. Esto puede deberse a varios factores, como lo es la

solubilidad del extracto, las interacciones de los compuestos presentes en el extracto, las técnicas que se utilicen para determinar el efecto antibacteriano (técnica de difusión en agar sin discos y técnicas donde no se requiera la difusión del extracto sino la disolución, como lo son las técnicas en caldo de cultivo) así como las especies de microorganismos que se empleen (el tipo de microorganismos que se analicen) (Valgas *et al.* 2007; Wiegand *et al.* 2008; Balouiri *et al.* 2016). Uno de los factores que fue recurrente en cada uno de los ensayos en cada técnica efectuada para analizar la actividad antibacteriana de los extractos fue la solubilidad de estos, dado que, mediante las tres técnicas realizadas, se observó que al preparar los extractos una cierta parte quedaba en suspensión en lugar de disolverse completamente. Algunos agentes antimicrobianos requieren de concentraciones menores debido a la solubilidad, por ello es también importante determinar las condiciones de solubilidad de cada antimicrobiano probado (CLSI, 2015). El tipo de solvente utilizado para realizar la extracción de los compuestos juega un papel vital en la solubilidad de los compuestos fitoquímicos, las diferencias en la estructura de los compuestos fitoquímicos también determinan su solubilidad en solventes de diferente polaridad, así como el grado de polimerización e interacciones de los compuestos fenólicos con otros fitoquímicos (Balouiri *et al.*,2016).

Este estudio constituye la primera evidencia de la composición fitoquímica de los extractos metanólicos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*, especies que se encuentran distribuidas en la región noroeste del país, adaptadas a condiciones climatológicas extremas y cuyo conocimiento es importante para conocer la diversidad de compuestos encontrados en las distintas especies de *Jatropha* en México y su posible utilización como fuente de metabolitos secundarios.

VII. CONCLUSIONES

Los análisis fitoquímicos de los extractos metanólicos de tallos y hoja de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*, mostraron que ambas especies son fuente importante de compuestos fenólicos. Se observó que los extractos de tallos fueron ricos en flavonoides, mientras que los extractos de las hojas mostraron mayor contenido de ácidos fenólicos.

Ambas especies mostraron tener un efecto antioxidante, siendo *Jatropha cordata* la especie que presentó mayor cantidad de compuestos fenólicos y mayor capacidad antioxidante, con respecto a *Jatropha cinerea*.

Pese al contenido de compuestos fenólicos en los extractos de ambas especies de *Jatropha* no presentaron efecto antibacteriano en *E. coli* y *S. aureus*, mediante las técnicas utilizadas. Sin embargo, ambas especies de *Jatropha* que se encuentran en el Estado de Sonora son fuente importante de metabolitos secundarios principalmente compuestos fenólicos, que podrían en un futuro utilizarse en diferentes sectores industriales, como agentes antioxidantes.

VIII. RECOMENDACIONES

- Realizar fraccionamientos biodirigidos del peso en seco de hojas y tallos de ambas especies de *Jatropha*.
- Probar las fracciones en mayor diversidad de microorganismos y líneas celulares.
- Evaluar el efecto antioxidante de cada fracción generada a partir de los extractos antes y después de liofilizar, para determinar los cambios que pudieran presentar los compuestos.

IX. LITERATURA CITADA

- Ali, I.B.E.H., R. Bahri, M. Chaouachi, M. Boussaïd, F. Harzallah-Skhiri. 2014. Phenolic content, antioxidant and allelopathic activities of various extracts of *Thymus numidicus* Poir. organs. *Industrial Crops and Products* 62, 188-195.
- Alscher, R. G., & Hess, J. L. 2017. Antioxidants in higher plants. pp. 136-144. CRC press. Taylor & Francis Group 6000 Broken Sound Parkway NW, FL 33487-2742, 134-144.
- Arriaga, L. y Y. Maya. 2007. Spatial variability in decomposition rates in a desert scrub of Northwestern Mexico. *Plant Ecology*, 189(2), 213-225.
- Ashish, K.N., S. Kunjabri, S. Sabuja. 2016. Comparative Studies on the Phytochemistry, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Jatropha* species (*J. curcas* L. and *J. gossypifolia* L.) of Odisha. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8 (10): 1614-1624.
- Attia, E. Z., S. Y. Desoukey, K. M. Mohamed, M. S. Kamel. 2019. Quantitative Analysis of Total Phenolic and Total Flavonoid Constituents of some *Ficus* species. *Journal of advanced Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 38-40.
- Ávalos-García, A. y C. E. Pérez-Urria. 2009. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*, vol. 2, no 3.
- Babbar, N., H. S. Oberoi, S. K. Sandhu y V. K. Bhargav. 2014. Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. *Journal of food science and technology*, 51(10), 2568-2575.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71-79. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. 2016. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71-79.
- Banjarnahor, S. D. S. y N. Artanti. 2014. Antioxidant properties of flavonoids. *Medical Journal of Indonesia*. <https://doi.org/10.13181/mji.v23i4.1015>.
- Boudebaz, K., S. Nia, M. T. Ayadi y J. K. Cherif. 2015. The effect of extraction method on antioxidant activity of *Atractylis babelii* Hochr. leaves and flowers extracts. *Algerian Journal of Natural Products* 3(2), 146-152.
- Burkill, H.M., 1994. The useful plants of west Tropical Africa (Families E-J), Royal Botanical Gardens Kew, London UK. pp: 90-94.
- Cantos, E. 2000. Effect of postharvest ultraviolet irradiation on resveratrol and other phenolics of Cv. Napoleon table grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.48, p.4606-4612.

- Carrillo-García, A. 1999. Nurse Plants, mycorrhizae and plant establishment in a disturbed area of the Sonoran Desert. *Restoration Ecology* 7(4): 321-335.
- Carvalho, H. A. A., Ribeiro, L. F., Pirovani, C. P., Gramacho, K. P. y Micheli, F. 2013. Activity of polygalacturonase from *Moniliophthora perniciosa* depends on fungus culture conditions and is enhanced by *Theobroma cacao* extracts. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 83:40-50.
- Cavalcante, N. B., da Conceição Santos, A. D., y da Silva Almeida, J. R. G. 2020. The genus *Jatropha* (Euphorbiaceae): A review on secondary chemical metabolites and biological aspects. *Chemico-Biological Interactions*, 108976.
- Chitindingu, K., A. R. Ndhlala, C. Chapano, M. A. Benhyura y M. Muchuweti. 2006. Phenolic compound content, profiles and antioxidant activities of *Amaranthus hybridus* (pigweed), *Brachiaria brizantha* (upright brachiaria) and *Panicum maximum* (guinea grass). *Journal of Food Biochemistry*. 31:206–216.
- CLSI. 2014. Performance Standars for Antimicrobial Susceptibility Testing; Tewenty Fourth Informational Supplement. *Clinical Laboratory Standars Institute* 32:1-188.
- Conabio, 2014. CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). Quinto Informe Nacional de México ante el Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB). México D.F.: CONABIO.
- De Rezende, F. M., D. Rosado, F. A. Moreira y W. R. S. de Carvalho. 2016. Vias de síntese de metabólitos secundários em plantas. *Laboratório de Ensino de Botânica*, 93.
- Dehgan, B. y G. L. Webster. 1979. Morphology and infrageneric relationships of the genus *Jatropha* (Euphorbiaceae). University California Press. Los Angeles USA. 73 p.
- Delgoda, R. y J. E. Murray. 2017. Evolutionary Perspectives on the Role of Plant Secondary Metabolites. *Pharmacognosy*, 93–100. doi:10.1016/b978-0-12-802104-0.00007-x
- Devappa, R.K., S. K. Rajesh, V. Kumar, H. P. S. Makkar, K. Becker. 2012. Localization of antinutrients and qualitative identification of toxic components in *Jatropha curcas* seed. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92, 1519–1525.
- Dias, W. L. F., do Vale Junior, E. P., de Oliveira, M. D. D. A., Barbosa, Y. L. P., do Nascimento Silva, J., Da Costa Júnior, J. S., De Almeida, P.M., & Martins, F. A. 2019. Cytogenotoxic effect, phytochemical screening and antioxidant potential of *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill leaves. *South African journal of botany*, 123, 30-35. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.02.007>.
- El-Baz, F. K., H. F. Aly, H. I. Abd-Alla y S. A. Saad. 2014. Bioactive flavonoid glycosides and antidiabetic activity of *Jatropha curcas* on streptozotocin-induced diabetic rats. *Sci. Rev. Res*, 29(2), 143-156.
- Elosaily, A. H., E. A. Mahrous, A. M. Salama y S. M. El Zalabani. 2019. Proximate composition, phenolic content and antioxidant potential of the leaves of four *Jatropha* species. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 10(1), 419-424.
- Felger R. S. y M.B. Moser. 1974. *Seri Indian Pharmacopoeia*. *Economic Botany*, 28: 414-436.

- Fresnedo-Ramírez, J. y Q. Orozco-Ramírez. 2013. Diversity and distribution of genus *Jatropha* in México. *Genetic Resources and Crop Evolution* 60, 1087-1104.
- Gallardo-Vásquez, G., J. Chávez-Flores y M. Contreras-Torvisco. 2018. Evaluación del efecto antibacteriano del látex de *Jatropha curcas* “piñón” frente a *Staphylococcus aureus*. Duazary: *Revista Internacional De Ciencias De La Salud*, 16(1). doi:10.21676/2389783X.2533.
- Gámez, N., L. A. Medina, P. Alday, B. Klaus, H. Makkar. 2013. Chemical characterization of kernels, kernel meals and oils from *Jatropha cordata* and *Jatropha cardiophylla* seeds. *J. Sci. Food Agric. May*: 93(7):1706-10.
- Gil-Ramírez, A., C. Pavo-Caballero, E. Baeza, N. Baenas, C. Garcia-Viguera, F. R. Marín, C. Soler-Rivas. 2016. Mushrooms do not contain flavonoids. *Journal of Functional Foods*, 25, 1–13. doi: 10.1016/j.jff.2016.05.005.
- Gómez, R. M. y O. Koh. 2019. Educación científica y medicina tradicional. Una comparación entre México y Corea del Sur. *Revista de El Colegio de San Luis*, 9(19), 39-59.
- González-Elizondo M., M. González-Elizondo, J. A. Tena-Flores, L. Ruacho-González, L. López-Enríquez. 2012. Vegetación de la Sierra Madre Occidental, México: una síntesis, *Acta Botánica Mexicana*, 100: 351-403, ISSN 0187-7151.
- Govaerts R., D.G. Frodin, A. Radcliffe-Smith, S. Carter. 2012. World checklist and bibliography of Euphorbiaceae (with Pandaceae), Vol 4, Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, Surrey, UK.
- Halffter, G. 2017. La zona de transición mexicana y la megadiversidad de México: del marco histórico a la riqueza actual. *Dugesiana*, 24(2), 77-89.
- Heinrich, M. y A. K. Jäger. 2015. *Ethnopharmacology*. John Wiley & Sons. Ed. 1. Oxford. USA. Pág., 393-401.
- Jain, S., G. Choudhary y D. Jaina. 2013. *In vitro* free radical scavenging activity of *Jatropha gossypifolia* Linn. Containing phenolic compounds. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7, 1424-1428.
- Janaki, A., P. K. Kaleena, D. Elumalai, K. Velu, M. Babu, S. Ravi, C. Arulvasu. 2018. Qualitative and quantitative phytochemical analysis: In vitro studies of antioxidant and anticancer activity of *Bauhinia tomentosa* (L) leaf extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(5), 2403-2410.
- Johnson, M. B. 1998. *Jatropha* (Euphorbiaceae) in southwestern United States and adjacent northern Mexico.
- Kane C. W. 2006. *Herbal Medicine of the American Southwest*. Lincoln Town Press. 307 pp.
- Kubalt, K. 2016. The role of phenolic compounds in plant resistance. *Biotechnol Food Sci*, 80 (2), 97-108.
- Li, G., X. Wang, Y. Xu, B. Zhang, y X. Xia. 2014. Antimicrobial effect and mode of action of chlorogenic acid on *Staphylococcus aureus*. *Eur. Food Res. Technol.* 238, 589–596. doi: 10.1007/s00217-013-2140-5.

- Lin, D., M. Xiao, J. Zhao, Z. Li, B. Xing, X. Li, H. Chen. 2016. An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. *Molecules*, 21(10), 1374.
- Llorente-Bousquets, J. y S. Ocegueda. 2008. Estado del conocimiento de la biota. *Capital natural de México*, 1, 283-322.
- López-Teros M. 2018. Determinación de los compuestos fenólicos y evaluación de la capacidad antioxidante, de extractos metanólicos de la parte aérea de *Jatropha cordata*. Localizada en Hermosillo Sonora. Universidad de Sonora. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Hermosillo, Sonora, México.
- Lovio-Fragoso., Gámez-Meza., Molina-Domínguez., Hayano-Kanashiro., Medina-Juárez. 2017. Physical characteristics and chemical constituents of *Jatropha cinerea* seeds. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*.
- M07-A10. 2015. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition
- Márquez S., M. Salomón, B. Sánchez, F. Cabrera, D. Gamez, M. Robles, H. Burgueño. 2013. La mariposa de los ténabaris (*Rotschildia cincta*): cultura, biogeografía y ecología. http://sistemanodalsinaloa.gob.mx/archivoscomprobatorios/_15_memoriaextenso/4950.pdf
- Medina-Juárez, L. A., A. C. Hayano-Kanashiro., J. P. Lovio-Fragoso., O. A. Reyna-Valenzuela y N. Gámez-Meza. 2015. Estudios químicos y moleculares de *Jatrophas* de sonora como fuente de potencial de aceites. *Epistemus*. 19. (9): 78-86.
- Molina-Quijada, D. M. a., L. A. Medina-Juárez, G. A. González-Aguilar, R. M. Robles-Sánchez, N. Gámez-Meza. 2010. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de cascara de uva (*Vitis vinifer* L.) de mesa cultivada en el noroeste de México. *CyTA-Journal of food* 8:57-63.
- Moser, M. B. 1985. *People of the desert and sea: ethnobotany of the Seri Indians*. Tucson, Ariz.: University of Arizona Press.
- Mujumdar, A.M., A.V. Misar, M.V. Salaskar y A.S. Upadhye. 2001. Antidiarrheal effect of an isolated fraction (JC) of *Jatropha curcas* roots in mice. *J. Nat. Remedies*, 1: 89-93.
- Nieves-Soto, M., O. M. Hernández-Calderón, C. A. Guerrero-Fajardo, M. A. Sánchez-Castillo, T. Viveros-García, I. Contreras-Andrade. 2012. Biodiesel current technology: ultrasonic process a realistic industrial application, in: *Biodiesel Feedstocks, Production and Applications*, (Zhen Fang Ed), Intech, Pp. 177-207, Croatia.
- Olszowy, M., & Dawidowicz, A. L. 2018. Is it possible to use the DPPH and ABTS methods for reliable estimation of antioxidant power of colored compounds?. *Chemical Papers*, 72(2), 393-400. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11696-017-0288-3>.
- OMS. Organización Mundial de la Salud. 2018. Resistencia a los antibióticos. Datos y cifras. Recuperado el 17 de octubre del 2018, de: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/es/>

- Osuna C., F., C. Atkinson, P. Vázquez, E. Barrios, A. M. Hernández, E. S. Rangel, E. Cruz. 2015. Estado del arte en la ciencia y tecnología para la producción y procesamiento de *Jatropha* no toxica. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Publicación especial No. 60 ISB: 978-607-37-0494-6
- Othman, A. R., N. Abdullah, S. Ahmad, I. S. Ismail y M. P. Zakaria. 2015. Elucidation of *in-vitro* anti-inflammatory bioactive compounds isolated from *Jatropha curcas* L. plant root. BMC complementary and alternative medicine, 15(1), 11.
- Oyama, M. O., O. I. Malachi y A. A. Oladejo. 2016. Phytochemical screening and antimicrobial activity of leaf extract of *Jatropha curcas*. Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences, 1-6.
- Pabón, L. C. y R. P. Hernández. 2012. Importancia química de *Jatropha curcas* y sus aplicaciones biológicas, farmacológicas e industriales. Revista Cubana de Plantas Medicinales. vol.17 no.2 Ciudad de la Habana, Cuba. Recuperado en 29 de octubre de 2018, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962012000200008&lng=es&tlng=en.
- Paul, A. K., F. A. A. Grace, O. C. Oreoluwa y A. A. Abdurashed. 2016. Comparative phytochemical and antimicrobial screening of methanolic extracts of *Jatropha curcas* L. (igilapalapa) from Two Ecological Zones. International Journalist of Multidisciplinary and Current research, 4.
- Pérez-Rúa M., N. 2007. Plantas medicinales de uso popular, Comunidad San José Kilómetro 6, Monografía para optar al título de antropóloga. Departamento de Antropología Facultad de Ciencias Sociales y Humanas, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.
- PII: e19828
- Pompano R., S. D. Danwe, y . M. Bello y O. K. Simeon. 2016. Qualitative Phytochemistry and Antibacterial Resistance Pattern of Leaves and Stem Bark Extracts of *Jatropha curcas*. American Journal of Microbiological Research, 4(5), 143-146.
- Popham R. 1947. Developmental Anatomy of seedling of *Jatropha cordata*, The Ohio J. Sci., Jan 47(1): 1-20.
- Quattrocchi, U. 2012. CRC World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants: Common names, Scientific names, Eponyms, Synonyms and Etymology. CRC Press. Volumen 5. Florida, EUA. 3960p.
- Ramírez González, S. I., López Báez, O., Espinosa Zaragoza, S., & Wong Villarreal, A. 2016. Actividad antifúngica de hidroddestilados y aceites sobre *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum gloesporioides*. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 7(8), 1879-1891.
- Rampadarath, S., D. Puchooa y V. M. Ranghoo-Sanmukhiya. 2014. A comparison of polyphenolic content, antioxidant activity and insecticidal properties of *Jatropha* species and wild *Ricinus communis* L. found in Mauritius. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 7, S384-S390.

- Rebecca, R., Samuel, D. D., Bello, Y. M., & Simeon, O. K. (2016). Qualitative Phytochemistry and Antibacterial Resistance Pattern of Leaves and Stem Bark Extracts of *Jatropha curcas*. *American Journal of Microbiological Research*, 4(5), 143-146.
- Reena T., K. Nand y P. B. Sharma. 2008. Therapeutic Biology of *Jatropha curcas*: A Mini Review, *Current Pharmaceutical Biotechnology*, vol: 9:4, pag. 315-324. doi:1389-2010/1873-4316, doi 10.2174/138920108785161505.
- Rempe C. S., K. P. Burris, S. C. Lenaghan y C. N. Stewart Jr. 2017. The potential of systems biology to discover antibacterial mechanisms of plant phenolics. *Frontiers in microbiology*, 8, 422.
- Robles-Zepeda, R. E., Coronado-Aceves, E. W., Velázquez-Contreras, C. A., Ruiz-Bustos, E., Navarro-Navarro, M., & Garibay-Escobar, A., 2013. *In vitro* anti-mycobacterial activity of nine medicinal plants used by ethnic groups in Sonora, Mexico. *BMC complementary and alternative medicine*, 13(1), 329. doi:10.1186/1472-6882-13-329.
- Sabandar, C.W., N. Ahmat, F. M. Jaafar, I. Sahidin. 2012. Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): a review. *Phytochemistry*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.10.009>.
- Saha, P., A. D. Talukdar, R. Nath, S. Sarkar, L. Nahar, J. Sahu, M. D. Choudhury. 2019. Role of natural phenolics in hepatoprotection: A mechanistic review and analysis of regulatory network of associated genes. *Frontiers in pharmacology*, 10, 509.
- Saltveit, M. E. 2017. Synthesis and metabolism of phenolic compounds. *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health*, 2 Volumes, 115.
- Sánchez E. J. J. 2001. Catálogo de Plantas Silvestres de Sonora, México. Universidad de Sonora. DICyT. CD ROM. Versión 1.0.
- Sánchez-Mejía, Z. M., L. Serrano-Grijalva, L. Peñuelas-Rubio, O. Pérez-Ruiz, E. R. Sequeiros, E. Ruvalcaba. M. T. García-Calleja. 2007. Composición florística y estructura de la comunidad vegetal del límite del desierto de Sonora y la selva baja caducifolia (Noreste de México). *Revista latinoamericana de recursos naturales*. 3(1), 74-83.
- Sharma, A. K., M. D. Gangwar, G. Kumar, A. S. K. Nath, Sinha, Y. B. Tripathi. 2016. Phytochemical characterization, antimicrobial activity and reducing potential of seed oil, latex, machine oil and presscake of *Jatropha curcas*. *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 6(4): 366.
- Sharma, S.K. y H. Singh. 2012. A review on pharmacological significance of genus *Jatropha* (Euphorbiaceae). *Chinese Journal of Integrative Medicine* 18, 868–880.
- Sharmin, E., & Zafar, F. 2017. *Spectroscopic Analyses: Developments and Applications*. BoD–Books on Demand. Ed. 1, Rijeka, Croacia. Pág., 106-110.
- Shreve, F. y I. L. Wiggins. 1964. *Vegetation and flora of the Sonoran Desert*. Stanford University press.
- Sosa-Segura, M. P., B. D. Oomah, J. Drover, J. B. Heredia, T. Osuna-Enciso, J. Valdez-Torres, y M. Angulo-Escalante. 2014. Physical and chemical characterization of three

- non-toxic oilseeds from the *Jatropha* genus. Journal of Food and Nutrition Research, 2(1), 56-61.
- Spjut, R. y R. Marin. 2000. Baja California Plants Screened for Antitumor Activity. The Symposium IV on Botany Research of Baja California, Ensenada, Mexico. http://www.worldbotanical.com/baja_california_plants_screened_.htm.
- Steinmann, V. 2002. Diversidad y endemismo de la familia Euphorbiaceae en México. Acta Botanica mexicana, (61), 61 - 93. SNICS, SINAREFI, México. 116p.
- Surco-Laos, F., Valle Campos, M., Loyola, E., Dueñas, M., & Santos, C. (2016). Actividad antioxidante de metabolitos de flavonoides originados por la microflora del intestino humano. Revista de la Sociedad Química del Perú, 82(1), 29-37.
- Sytar, O., I. Hemmerich, M. Zivcak, C. Rauh y M. Brestic. 2018. Comparative analysis of bioactive phenolic compounds composition from 26 medicinal plants. Saudi journal of biological sciences, 25(4), 631-641.
- Tan, J. B. L. y Y. Y. Lim. 2015. Critical analysis of current methods for assessing the *in vitro* antioxidant and antibacterial activity of plant extracts. Food chemistry, 172, 814-822.
- Tang, X., Zhiyong, H., Dai, Y., Xiong, Y., Xie, M. y Chen, J. 2010. Peptide fractionation and free radical scavenging activity of zein hydrolysate. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 58 (1): 587-593.
- Tequida-Meneses, M., M. Cortez-Rocha, E. C. Rosas-Burgos, S. López-Sandoval, C. Corrales-Maldonado. 2002. Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. Revista iberoamericana de micología, 19, 84-88.
- Tsou, L. K., M. Lara-Tejero, J. Rosefigura, Z. J. Zhang, Y. C. Wang, J. S. Yount. 2016. Antibacterial flavonoids from medicinal plants covalently inactivate type III protein secretion substrates. J. Am. Chem. Soc. 138, 2209–2218. doi: 10.1021/jacs.5b11575.
- Turner, R. M. 2005. Sonoran Desert Plants and Ecological Atlas. University of Arizona Press. 501 p.
- Valgas, C., Souza, S. M. D., Smânia, E. F., & Smânia Jr, A. 2007. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. Brazilian journal of microbiology, 38(2), 369-380. ISSN 1517-8382.
- Verma, N., & Shukla, S. 2015. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 2(4), 105-113.
- Villalvazo G. J. E., O. H. Aguilar, G. M. A. Quiroga, G. L. E. Villarreal. 2017. Uso de herbolaria para afecciones bucales en una población de Nayarit, México. Revista de Ciencias Farmacéutica y Biomedicina, Ed. 1. México.
- Villaseñor J. L. 2016. Checklist of the native vascular plants of Mexico. 2016. Revista Mexicana de Biodiversidad 87 559–902.

- Villaseñor, J. L. 2003. Diversidad y distribución de las Magnoliophyta de México. *Interciencia* 28: 160-167.
- Villaseñor, J. L. 2004. Los géneros de plantas vasculares de la flora de México. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 75: 105-135.
- Villaseñor, J. L., y E. Ortiz. 2014. Biodiversidad de las plantas con flores (División Magnoliophyta) en México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 85, 134-142.
- Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. 2008. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature protocols*, 3(2), 163.
- Yang Y.F., J. Q. Liu, Z. R. Li, Y. Li, M. H. Qiu. 2013. New eudesmenoic acid methyl esters from the seed oil of *Jatropha curcas*. *Fitoterapia*: 89: 278–284.
- Yetman, D. y T. R. Van Devender. 2002. *Mayo Ethnobotany. Land, History, and Traditional Knowledge in Northwest Mexico*. University of California Press. Los Angeles, California USA. Pp. 188-189.
- Zou, Z., W. Xi, Y. Hu, C. Nie, Z. Zhou. 2016. Antioxidant activity of Citrus fruits. *Food Chemistry*, 196, 885–896. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.09.072.

X. APÉNDICES

Apéndice 1. Metodología del análisis del perfil fitoquímico cualitativo

Se realizaron 14 pruebas colorimétricas para determinar la presencia de 9 grupos de metabolitos secundarios; flavonoides, fenoles, saponinas, esteroides, taninos, quinonas y glicósidos. En algunos grupos se realizaron las detecciones por más de un método diferente. Todas las pruebas fueron realizadas para cada fracción generada a partir de extractos metanólicos de hojas y tallos de *Jatropha cinerea* y *Jatropha cordata*, los resultados se interpretaron como presencia (+) y ausencia (-) de los grupos de metabolitos.

Flavonoides:

- Reacción de Shinoda: se colocaron 20 gotas de cada fracción del extracto en 4 tubos de ensayo de vidrio. A cada tubo se agregaron 2 gotas de HCl concentrado, en caso de presentar un cambio de color a rojo indica la presencia de chalconas o auronas, si resulta positivo agregar un trozo de magnesio metálico: si la solución cambia a color naranja rojizo indica la presencia de flavonas, si es solo rojo indica presencia de flavonoles y en caso de presentar coloración magenta indica la presencia de flavononas.
- Reacción con NaOH al 10%: a cada tubo se adicionaron 3 gotas de NaOH, si la solución cambia de una coloración amarillo a rojo, indica la presencia de xantonas y flavonas y si cambia de café a naranja indica la presencia de flavonoles. Si cambia de púrpura a rojizo indica la presencia de chalconas y si cambia a color azul indica la presencia de antocianinas.
 - Como control positivo se utilizó quercetina.

Fenoles:

- Reacción de FeCl_3 : se agregaron 20 gotas de los extractos en tubos de ensayo, posteriormente a cada tubo se añadieron 2 gotas de FeCl_3 , si la solución cambia a un color oscuro la reacción es considerada positiva.

Como control positivo se utilizó ácido gálico.

Cumarinas:

- Reacción de KOH al 0.5M: se utilizaron 2 mL de cada fracción del extracto y se evaporó el solvente en una placa de calentamiento. Posteriormente se agregó 1 mL de agua destilada y se dejó ebulir, se disolvió la mayor parte posible de cada fracción. De esta solución se tomó una gota con un capilar y se colocó en papel filtro, al área correspondiente a la gota en el papel filtro se le agregó una gota de KOH y se observó mediante fluorescencia a una longitud de onda aproximada de 365 nm. Las fracciones que presenten fluorescencia similar al control se consideraron positivas.
 - Como control positivo se utilizó canela.

Saponinas:

- Reacción de Rosenthaler: a 1 mL de cada fracción de los extractos se agregaron 2 gotas del reactivo Rosenthaler, posteriormente se agregaron 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Si la solución cambia a color violeta intenso se tomará como positiva.

Esteroles:

- Reacción de Lieberman-Burchard: se agregó 1 mL de cada fracción de los extractos a tubos de ensayo, posteriormente se adicionaron 0.5 mL de cloroformo, 0.5 mL de anhídrido acético y 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Si la solución cambia de color rojo a azul y luego a verde, la reacción se consideró positiva para esteroles-triterpenos.
 - Como control positivo se utilizó una solución rica en terpenos.

Taninos:

- Las fracciones deben prepararse de la siguiente forma para posteriormente realizar las pruebas: se agregó a 1 mL de cada fracción de los extractos 2 mL de agua destilada y 2 gotas de NaCl (cloruro de sodio) al 2%, las soluciones se llevaron a ebullición, se enfriaron y se filtraron con papel de filtro N°2. Cada solución se dividió en tres alícuotas para las siguientes reacciones:

- Reacción de cloruro férrico: a cada tubo se le adicionaron 2 gotas de cloruro férrico al 2%. Si la solución cambio de color azul a negro, la reacción se considera positiva para derivados de ácido gálico; en cambio, si se torna color verde se considera positiva para derivados del catecol.
- Reacción con ferrocianuro de potasio: a cada solución de las fracciones se les agregó 1 gota de ferrocianuro de potasio al 1%, si la solución se torna de color azul, la reacción es positiva para compuestos fenólicos.
- Reacción con acetato de plomo: se agregaron 2 gotas de acetato de plomo al 10%. Al observarse precipitado color gris o turbidez, la reacción se considera positiva.
- Como control positivo se utilizó ácido gálico.

Alcaloides:

- Las fracciones deben prepararse de la siguiente forma para posteriormente realizar las pruebas: se utilizaron 3 mL de cada fracción de los extractos y se adicionaron 2 mL de HCl (ácido clorhídrico) al 10% y se llevaron a ebullición, se dejaron enfriar y fueron filtradas, cada solución se dividió en dos para llevar a cabo las siguientes reacciones:
 - Reacción de Wagner: a cada muestra se agregaron dos gotas del reactivo de Wagner. La reacción se consideró positiva si se formó un precipitado color marrón.
 - Reacción de Mayer: a cada muestra se agregaron 2 gotas del reactivo de Mayer y se consideró positiva la reacción si se presentó la formación de un precipitado de color blanco.
 - Como control positivo se utilizó berberina.

Quinonas:

- Las fracciones deben prepararse de la siguiente forma para posteriormente realizar las pruebas: de cada fracción se agregó por duplicado 1 mL de muestra y se llevaron a cabo las siguientes reacciones:
 - Reacción de hidróxido de amonio (NH_4OH): a cada muestra se agregaron 2 gotas de NH_4OH (hidróxido de amonio) y se consideró positiva (para antraquinonas) la reacción si la solución cambio a color rojo dentro de los primeros dos min.

- Reacción con ácido sulfúrico (H₂SO₄): a cada muestra se agregó una gota de H₂SO₄ (ácido sulfúrico) y se consideró positiva (antraquinonas) la reacción al cambio de coloración a rojo de la solución.
- Como control positivo se utilizó hematoxidina.

Glicósidos:

- Reacción de Keller-Killani: Se tomaron 2 mL de cada fracción y se llevaron a sequedad, posteriormente se agregó 1 mL de ácido acético glacial a cada muestra, posteriormente fueron filtradas, éstas se transfirieron a tubos de ensayo y se agregaron dos gotas de FeCl₃ al 2%, después se agregó 1 mL de ácido clorhídrico concentrado. La reacción se consideró positiva si se observó la formación de un halo color rojo.

Apéndice 2. Rendimiento de peso en seco por punto de muestreo de hojas y tallos colectados y molidos de *J. cinerea* y *J. cordata*.

<i>Jatropha cinerea</i>		<i>Jatropha cordata</i>	
Punto 1			
Hoja: 134g.		Hoja: 203g.	
Tallo: 246g.		Tallo: 319g.	
Punto 2			
Hoja: 128g.		Hoja: 189g.	
Tallo: 212g.		Tallo: 278g.	
Punto 3			
Hoja: 104g.		Hoja: 203g.	
Tallo: 159g.		Tallo: 279g.	