



**UNIVERSIDAD DE SONORA**

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

**POSGRADO EN BIOCENCIAS**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD  
ANTIINFLAMATORIA Y EFECTO  
CICATRIZANTE *in vivo* DE EXTRACTOS  
METANÓLICOS DE *Ibervillea sonorae***

**TESIS**

que para obtener el grado de:

**MAESTRO EN BIOCENCIAS**

presenta:

**JOSÉ GERARDO ESTRADA GARCÍA**

Hermosillo, Sonora, México

Diciembre de 2021

# 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

Hermosillo, Sonora a 13 de diciembre del 2021

Asunto: Cesión de derechos

**UNIVERSIDAD DE SONORA  
P R E S E N T E.**

Por este conducto hago constar que soy autor y titular de la obra denominada **Evaluación de la actividad antiinflamatoria y efecto cicatrizante *in vivo* de extractos metanólicos de *Ibervillea sonorae***, en los sucesivo LA OBRA, realizada como trabajo terminal con el propósito de obtener el Grado de **Maestro en Biociencias** virtud de lo cual autorizo a la Universidad de Sonora (UNISON) para que efectúe la divulgación, publicación, comunicación pública, distribución, distribución pública, distribución electrónica y reproducción, así como la digitalización de la misma, con fines académicos o propios de la institución y se integren a los repositorios de la universidad, estatales, regionales, nacionales e internacionales.

La UNISON se compromete a respetar en todo momento mi autoría y a otorgarme el crédito correspondiente en todas las actividades mencionadas anteriormente.

De la misma manera, manifiesto que el contenido académico, literario, la edición y en general cualquier parte de LA OBRA son de mi entera responsabilidad, por lo que deslindo a la UNISON por cualquier violación a los derechos de autor y/o propiedad intelectual y/o cualquier responsabilidad relacionada con la OBRA que cometa el suscrito frente a terceros.

ATENTAMENTE



LIC. GILBERTO LEÓN LEÓN  
Abogado General  
UNIVERSIDAD DE SONORA

---

**JOSÉ GERARDO ESTRADA GARCÍA**

Hermosillo, Sonora, México

Diciembre, 2021

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA Y EFECTO  
CICATRIZANTE *in vivo* DE EXTRACTOS METANÓLICOS DE *Ibervillea sonorae*

T E S I S

que para obtener el grado de:

MAESTRO EN BIOCENCIAS

presenta:

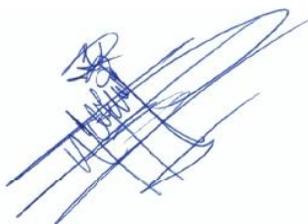
JOSÉ GERARDO ESTRADA GARCÍA

Hermosillo, Sonora, México

Diciembre del 2021

## APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para revisar la tesis titulada **Evaluación de la actividad antiinflamatoria y efecto cicatrizante *in vivo* de extractos metanólicos de *Ibervillea sonorae*** presentada por **José Gerardo Estrada García** la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Biociencias.



---

Dr. Ramón Enrique Robles Zepeda  
Director



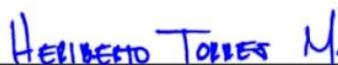
---

Dra. Nohemí Gámez Meza  
Codirectora



---

Dr. Luis Ángel Medina Juárez  
Secretario



---

Dr. Heriberto Torres Moreno  
Sinodal interno



---

Dr. Juan José Acevedo Fernández  
Sinodal externo

## RESUMEN

Una herida en el organismo inicia un proceso de curación de tres fases: inflamación, proliferación y remodelación. En heridas crónicas, las fases pueden prolongarse y afectar la cicatrización. Los tratamientos para heridas crónicas pueden ser complejos y afectar negativamente el tejido. *Ibervillea sonora* es una planta del noroeste de México, la cual ha sido utilizada por grupos étnicos para tratar enfermedades. Varios estudios le atribuyen a *I. sonora* diversos efectos biológicos como la actividad antiinflamatoria. Sin embargo, se desconoce algún efecto antiinflamatorio y cicatrizante *in vivo*. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antiinflamatorio y cicatrizante *in vivo* de extractos metanólicos de la raíz (EMR) de *I. sonora* utilizando ratones albinos machos de la cepa CD1. Se determinó el efecto antiinflamatorio en un modelo de edema murino inducido por 13-acetato de 12-tetradecanoilforbol (TPA). El efecto cicatrizante se determinó aplicando tópicamente el EMR sobre una escisión en el dorso del ratón y se midió la retracción de la herida mediante una serie de fotografías por un lapso de 18 días. Adicionalmente, se evaluó la toxicidad del EMR al administrarse por vía oral en ratones. El efecto antiinflamatorio del EMR en las concentraciones de 1, 3, 5.7 y 10 mg/herida fue de  $4.8 \pm 3.9$ ,  $28.9 \pm 6.6$ ,  $48.8 \pm 6.5$  y  $76.1 \pm 2.8\%$ , respectivamente. El EMR disminuyó significativamente el porcentaje de linfocitos (72.5-58.6) y monocitos (4.6-2.8) y aumentó el porcentaje de neutrófilos (22.7-38.5) en sangre periférica. El EMR de *I. sonora* no presentó actividad cicatrizante en ninguna dosis. La dosis letal (DL<sub>50</sub>) fue de 1750 mg/kg. En conclusión, el presente estudio demostró que EMR presenta actividad antiinflamatoria en un modelo de edema auricular inducido por TPA. Sin embargo, el EMR de *I. sonora* no posee un efecto cicatrizante y fue clasificado como nocivo. Los resultados obtenidos sugieren que el EMR de *I. sonora* es un potencial candidato para tratar la inflamación.

## ÍNDICE GENERAL

	<b>Página</b>
APROBACIÓN .....	ii
RESUMEN .....	iii
ÍNDICE GENERAL .....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vi
ÍNDICE DE TABLAS .....	vii
INTRODUCCIÓN .....	1
I. ANTECEDENTES .....	2
I.1. Inflamación .....	2
I.2. Cicatrización .....	4
I.2.1. Proliferación .....	4
I.2.2. Remodelación .....	6
I.3. Diferencias entre cicatrización aguda y crónica .....	7
I.4. Patologías clínicas en donde se producen defectos en la cicatrización .....	8
I.5. Tratamientos antiinflamatorios y cicatrizantes .....	8
I.6. Propiedades medicinales de plantas .....	10
I.7. <i>Ibervillea sonorae</i> .....	11
I.7.1. Actividades biológicas de <i>Ibervillea sonorae</i> .....	12
I.7.2. Composición química de los extractos .....	18
II. JUSTIFICACIÓN .....	21
III. OBJETIVO .....	22
III.1. Objetivo general .....	22
III.2. Objetivos específicos .....	22
IV. MATERIALES Y MÉTODOS .....	23
IV.1. Recolección e identificación de material vegetal .....	23
IV.2. Generación de los extractos metanólicos de <i>Ibervillea sonorae</i> .....	23
IV.3. Animales de experimentación .....	23
IV.4. Fármacos y reactivos .....	24
IV.5. Modelo de edema auricular inducido por TPA .....	24

IV.5.1. Cuantificación de células .....	26
IV.6. Modelo de cicatrización.....	27
IV.7. Toxicidad Oral Aguda .....	28
IV.8. Análisis Estadístico.....	30
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	31
V.1. Efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de la raíz de <i>Ibervillea sonora</i> ....	31
V.2. Determinación del curso temporal de la inflamación auricular inducida por TPA. .	32
V.3. Conteo diferencial de células sanguíneas .....	38
V.4. Cinética de cicatrización del extracto metanólico de la raíz de <i>Ibervillea sonora</i> ..	42
V.6. Toxicidad oral aguda del extracto metanólico de la raíz de <i>Ibervillea sonora</i> .....	46
VI. CONCLUSIONES .....	48
VII. RECOMENDACIONES.....	49
VIII. LITERATURA CITADA .....	50

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Progreso de las fases secuenciales de la reparación de tejidos en relación con el tiempo. ....	5
<b>Figura 2.</b>	Estructura molecular de cucurbitacina IIb y kinoína A. ....	20
<b>Figura 3.</b>	Protocolo para evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de la raíz de <i>I. sonorae</i> . ....	25
<b>Figura 4.</b>	Protocolo para evaluar el efecto antiinflamatorio. ....	27
<b>Figura 5.</b>	Protocolo para evaluar el efecto cicatrizante. ....	28
<b>Figura 6.</b>	Diagrama del método de la prueba de toxicidad oral aguda establecido por la OECD. ....	29
<b>Figura 7.</b>	Ejemplos del método 425 “Up & Down” establecido por la OECD para determinar la $DL_{50}$ de una sustancia. ....	30
<b>Figura 8.</b>	Evaluación del efecto antiinflamatorio del EMR de <i>I. sonorae</i> en el modelo de edema auricular inducido con TPA. ....	32
<b>Figura 9.</b>	Evaluación del efecto antiinflamatorio del EMR de <i>I. sonorae</i> , TPA + vehículo, Indometacina expresado en porcentaje de inflamación. ....	33
<b>Figura 10.</b>	Estructura molecular del esqueleto tetracíclico cucurbitano, 9 $\beta$ -metil-19-norlanosta-5-eno. ....	36
<b>Figura 11.</b>	Vías de señalización intracelular que activan el proceso inflamatorio. ....	37
<b>Figura 12.</b>	Efecto del tratamiento local con el extracto de <i>I. sonorae</i> en el porcentaje de células inmunes presentes en sangre periférica durante un proceso inflamatorio inducido por TPA. ....	40
<b>Figura 13.</b>	Efecto del tratamiento con EMR de <i>I. sonorae</i> en el porcentaje de células inmunes en sangre periférica de ratones con edema auricular inducido por TPA. ....	41
<b>Figura 14.</b>	Fotografías de la cinética de la lesión sometida a diferentes tratamientos en un periodo de 18 días. ....	44
<b>Figura 15.</b>	Efecto cicatrizante del EMR de <i>I. sonorae</i> . Cinética de cicatrización de los grupos con diferentes tratamientos. ....	45

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Actividad biológica reportada de <i>Ibervillea sonorae</i> . .....	13
<b>Tabla 2.</b>	Compuestos identificados en <i>Ibervillea sonorae</i> con potencial biológico.....	19
<b>Tabla 3.</b>	Toxicidad oral aguda de EMR de <i>Ibervillea sonorae</i> . .....	46

## INTRODUCCIÓN

Las heridas crónicas afectan a más de 6.5 millones de personas tan solo en Estados Unidos, con un costo anual estimado mayor a los 50 mil millones de dólares. Además del elevado costo que puede implicar su tratamiento, una herida que no cicatriza debidamente puede causar pérdida de movilidad y generar una mala calidad de vida (Lanau-Roig *et al.*, 2017; Ellis *et al.*, 2018). Por lo tanto, restaurar la integridad de tejidos y mantener la homeostasis cuando existe una lesión es fundamental en todos los organismos. La reparación de tejidos es un proceso dinámico e interactivo que consta de cuatro fases: hemostasis, inflamación, proliferación y remodelación celular (Eming, 2019). Este proceso se lleva a cabo mediante la función de células especializadas como plaquetas, neutrófilos, monocitos, macrófagos, fibroblastos y queratinocitos que son activados por diversos mecanismos celulares. Cuando los mecanismos celulares no funcionan adecuadamente, la reparación del tejido se induce a una condición crónica. Los tratamientos actuales para estimular la reparación de tejidos en enfermedades crónicas tienen una eficacia limitada (Eming *et al.*, 2014). Por otro lado, las plantas medicinales son utilizadas como alternativa terapéutica para tratar algunas enfermedades. La OMS estima que el 65-80% de la población de países en desarrollo (WHO, 2013a, 2013b), utiliza las plantas o sus derivados como medicina. *Ibervillea sonorae* es una planta ubicada en el noroeste de México y es utilizada en la medicina tradicional por grupos étnicos para tratar afectaciones de la piel, enfermedades inflamatorias como artritis, reumatismo, heridas, diabetes y cáncer (Alarcon-Aguilar *et al.*, 2002; Zapata-Bustos *et al.*, 2014; Torres-Moreno *et al.*, 2019). Diversos estudios le atribuyen a *I. sonorae* efectos biológicos, respaldando su uso tradicional (Alarcon-Aguilar *et al.*, 2005). Existen estudios sobre actividad antiinflamatoria *in vitro* (Estrada-García, 2019; Torres-Moreno *et al.*, 2019), sin embargo, se desconoce si esta actividad se replica *in vivo*. Asimismo, no existen estudios sobre el efecto cicatrizante de *I. sonorae*. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad antiinflamatoria y cicatrizante *in vivo* de extractos metanólicos de la raíz (EMR) de *I. sonorae*.

## **I. ANTECEDENTES**

### **I.1. Inflamación**

La inflamación es una respuesta del sistema inmune contra estímulos dañinos como patógenos, células dañadas, compuestos tóxicos o radiación. El proceso inflamatorio puede desarrollarse de manera independiente o puede formar parte la cicatrización y su función es neutralizar, diluir o eliminar el agente dañino. Adicionalmente, marca el inicio de una serie de eventos que pueden sanar o reparar el sitio afectado regenerando tejido dañado y/o formar tejido fibroblástico (proliferación y remodelación celular) (Anderson, 2013; Chen *et al.*, 2018).

Inmediatamente después del daño se presentan cambios en el flujo vascular, diámetro y permeabilidad de los vasos sanguíneos. Estos procesos inician la hemostasis, un proceso que sucede en los primeros minutos iniciada la lesión y cuya finalidad es evitar la pérdida de sangre. La hemostasis involucra a vasos sanguíneos, plaquetas, factores de coagulación, inhibidores de coagulación y fibrinólisis como proceso final de degradación del trombo (Ellis *et al.*, 2018; Zaidi *et al.*, 2019). Los vasos sanguíneos se contraen rápidamente gracias al músculo liso que rodea las paredes de los vasos y se reduce el flujo sanguíneo al sitio afectado (Furie *et al.*, 2008). Las plaquetas se adhieren al subendotelio en un complejo proceso que involucra a varios ligandos (colágeno, factor de von Willebrand, fibrina/fibrinógeno, fibronectina y, trombospondina) y receptores de superficie que activa la presencia de plaquetas en el sitio afectado de los vasos dañados, formando un tapón de plaquetas. Además, la exposición a factores de tejido induce la activación de factores de coagulación (p. ej.: factor V, XIII, IX) y generación de trombina que favorece la formación de un coágulo de fibrina que fortalece al trombo (Golebiewska *et al.*, 2015; Greer *et al.*, 2018; Zaidi *et al.*, 2019).

La coagulación es regulada por varios compuestos anticoagulantes como la antitrombina, proteína C activada y factores de coagulación (factor IXa, Xa, XIa y XIIa) (Sira *et al.*, 2016). La fibrina acumulada intravascularmente es removida del trombo mediante la fibrinólisis, regulada por una serie de cofactores, inhibidores y receptores; destacando la plasmina como fibrinolisis principal, enzima capaz de degradar proteínas de la matriz extracelular. La plasmina es regulada por la presencia de inhibidores de la serina proteasa

(serpina) así como por diversas células capaces de modular la fibrinólisis mediante moléculas de superficie como células endoteliales y monocitos (Chapin *et al.*, 2015; Visha *et al.*, 2019).

La respuesta inflamatoria tiene como objetivo erradicar cualquier agente patógeno (ej.: bacterias) con el menor daño colateral en los tejidos afectados, para posteriormente reparar el tejido y mantener la homeostasis (Gallo *et al.*, 2017). Clínicamente, la inflamación se caracteriza por la presencia de dolor, calor, enrojecimiento e hinchazón. La lesión del tejido provoca la liberación de histamina, que estimula la dilatación capilar, permitiendo la migración de fagocitos al sitio afectado (Bennett *et al.*, 2018). Los neutrófilos, monocitos y macrófagos son células clave durante la fase inflamatoria y se presentan durante el desarrollo de la hemostasis y el proceso de coagulación. Las células inflamatorias limpian la herida de una infección y liberan mediadores solubles como citocinas proinflamatorias (incluidas IL-1, IL-6, IL-8 y TNF- $\alpha$ ) y factores de crecimiento (como PDGF, TGF- $\beta$ , TGF-  $\alpha$  y FGF) que participan en el reclutamiento y activación de fibroblastos y células epiteliales en preparación para la siguiente fase de curación (Schultz *et al.*, 2011).

Los neutrófilos migran al sitio afectado, dónde fagocitan y secretan proteasas capaces de erradicar bacterias y degradar tejido necrosado. Los neutrófilos además liberan mediadores como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6, los cuales amplifican la respuesta inflamatoria y estimulan la presencia del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) e IL-8 para promover una reparación adecuada (Reinke *et al.*, 2012).

Además de promover la erradicación de agentes externos, los mediadores inflamatorios inducen el reclutamiento y activación de monocitos circundantes o provenientes del torrente sanguíneo en macrófagos (Eming, 2019). Los macrófagos fagocitan células muertas, fungen como células presentadoras de antígeno, identifican agentes patógenos y liberan citocinas que aumentan la permeabilidad de los vasos sanguíneos, permitiendo que el fluido y las proteínas pasen a los tejidos. Los macrófagos producen quimiocinas que dirigen la migración de neutrófilos al sitio afectado (Murphy *et al.*, 2016). Además, los macrófagos expresan receptores de reconocimiento de patrones (PRRs, por sus siglas en inglés) en la superficie celular, compartimentos endosómicos y citosol capaces de reconocer patrones moleculares asociados a patógenos y/o al daño (PAMP, DAMP, por sus siglas en inglés) generados en respuesta al estrés celular. La activación de estos receptores

induce la producción de mediadores proinflamatorios como óxido nítrico (ON), interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) (Ansar *et al.*, 2017; Schultz *et al.*, 2011). Algunos de estos mediadores solubles reclutan y activan a otras células como los fibroblastos, que se encargan de la síntesis de tejido nuevo y promueven la angiogénesis. La disminución de neutrófilos y macrófagos en la herida es un indicador de que la fase inflamatoria está llegando a su fin y da pauta a las fases de proliferación y remodelación del tejido dañado (Schultz *et al.*, 2011).

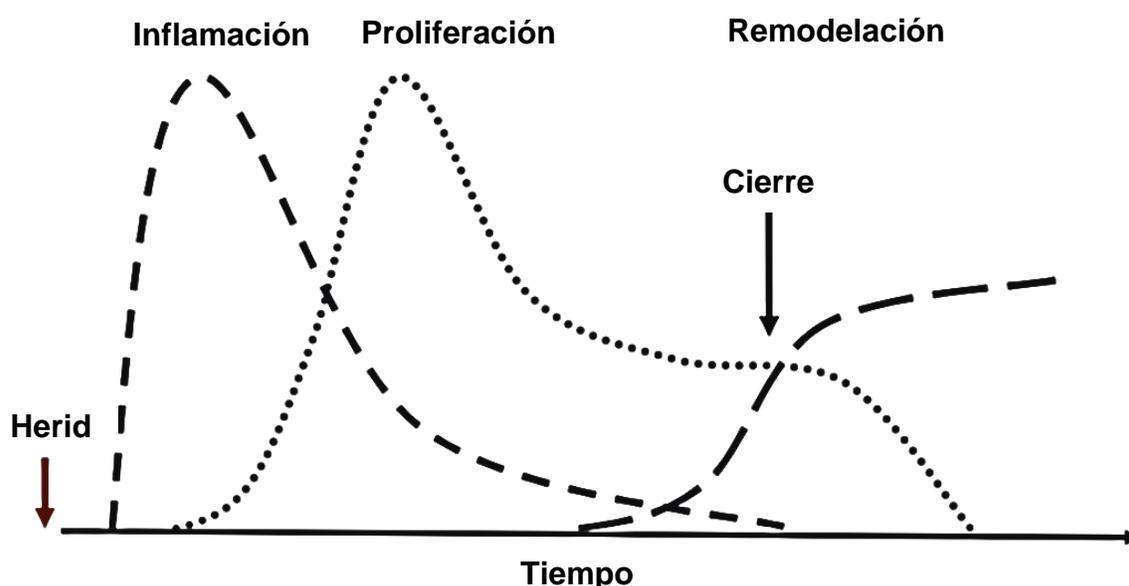
## **I.2. Cicatrización**

Los organismos poseen la capacidad para reparar y/o regenerar tejidos, restaurando las funciones necesarias de los órganos para garantizar la supervivencia en la naturaleza. Una herida es aquella lesión en el cuerpo que implica una laceración o rotura de una membrana (ej. la piel), generando daño a tejidos subyacentes. El proceso involucra la activación de vías de señalización intercelulares, coordinación de la integridad de tejido y homeostasis. El proceso de curación del tejido se define por la naturaleza y profundidad de la lesión. La reparación de tejidos consiste en el progreso de tres fases secuenciales que se superponen entre sí: inflamación, proliferación y remodelación (Figura 1) (Reinke *et al.*, 2012; Shiffman, 2018).

### **I.2.1. Proliferación**

La fase proliferativa se caracteriza por los procesos de fibroplasia, re-epitelización, angiogénesis y reparación de los nervios periféricos. (Cañedo-Dorantes *et al.*, 2019). La fibroplasia inicia con la formación de tejido granuloso, caracterizado por la proliferación de fibroblastos, que son los responsables de la producción de una nueva matriz extracelular (ECM, siglas en inglés) (Oliveira-Gonzalez *et al.*, 2016). Los fibroblastos son estimulados por factores de crecimiento (mayormente TGF- $\beta$  y PDGF) para su proliferación. Al tercer día, el sitio afectado dispone de abundantes fibroblastos que generan proteínas de la ECM (hialurano, fibronectinas y proteoglicanos) y colágeno. La síntesis de colágeno es el

componente clave que otorga fuerza a los tejidos. El tejido fibroso, compuesto por una gama de diferentes colágenos (mayormente colágeno tipo III), empieza a reemplazar el coágulo del sitio afectado. Una vez establecida la ECM, los fibroblastos cambian de fenotipo a miofibroblastos, permitiéndoles interactuar con proteínas circundantes, fibronectina, colágeno y además ayudan en la contracción de la herida (Harper *et al.*, 2014).



**Figura 1.** Progreso de las fases secuenciales de la reparación de tejidos en relación con el tiempo.

La re-epitelización es el recubrimiento de una herida con tejido nuevo, un proceso estimulado por una variedad de señales como el ON, citocinas y factores de crecimiento incluidos el factor de crecimiento epitelial (EFG) y factor de crecimiento nervioso (NGF), secretados por distintos tipos celulares presentes en la herida (Landén *et al.*, 2016). La re-epitelización se produce a partir de células madre presentes en las glándulas sudoríparas y unidades pilosebáceas. La migración y proliferación de queratinocitos al sitio afectado inicia por la presencia de diversas citocinas y factores de crecimiento. La proliferación de queratinocitos se caracteriza por la generación de una infraestructura de filamentos intermedios de queratina (Pastar *et al.*, 2014; Ramirez *et al.*, 2014; Rousselle *et al.*, 2019).

La adhesión entre queratinocitos es mediada por uniones adherentes y desmosomas, que tienen una relación directa con el citoesqueleto. En el margen de la herida los queratinocitos modifican su estructura cuboidal a células aplanadas. La regulación de la proliferación de queratinocitos es dependiente de la disponibilidad de factores de crecimiento, el grado de diferenciación y moléculas de adhesión célula-sustrato como la integrina. Solamente los queratinocitos basales poseen la capacidad de proliferar, mientras que los que se encuentren en la capa suprabasal pierden esta propiedad (Savagner *et al.*, 2005).

La angiogénesis es la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de una vasculatura pre-existente. Este proceso aumenta la presencia de vasos sanguíneos en el sitio afectado para suministrar oxígeno y nutrientes. Cuando existe un daño a tejidos, la angiogénesis puede ser estimulada por una variedad de factores de crecimiento, citocinas, mediadores de lípidos e hipoxia. Uno de los mediadores proangiogénicos más importantes es el VEGF, pues su presencia es esencial para una reparación correcta (Johnson *et al.*, 2014). Después del crecimiento de vasos sanguíneos en las heridas, se produce un período de corte vascular, eventualmente, la mayoría de los vasos recién formados se inhiben hasta que la densidad de los vasos sanguíneos vuelve a la del tejido normal (DiPietro, 2016).

Normalmente un organismo sano es capaz de reparar una herida de manera ordenada y eficiente. Una herida aguda involucra la ruptura de la integridad de la envoltura de tejidos blandos que rodea cualquier parte del cuerpo. El tiempo de cicatrización es definido por el tamaño de la herida, profundidad y estructuras anatómicas afectadas, causa de la herida, edad y condición física del paciente (Visha *et al.*, 2019).

### I.2.2. Remodelación

La remodelación, conocida también como maduración, marca la fase final de la cicatrización y se caracteriza por la generación de una cicatriz. El objetivo principal es obtener un tejido que soporte la máxima resistencia a la fuerza de tensión, la reorganización, degradación y resíntesis de la matriz extracelular. En la etapa final de la reparación de tejidos se produce un intento por recuperar la estructura tisular normal, y el tejido de granulación se remodela gradualmente, formando tejido cicatricial, disminuyendo la densidad celular y vascular, presentando un aumento progresivo de la concentración de fibra de colágeno (Oliveira-

Gonzalez *et al.*, 2016). En esta etapa los miofibroblastos, derivados de los fibroblastos, son los responsables de la retracción de la herida. En esta fase, se ralentiza la angiogénesis y el colágeno tipo III del tejido granuloso es degradado por metaloproteinasas de colágeno, obteniendo colágeno tipo I, que se reorganiza aún más en fibrillas paralelas, formando una cicatriz de baja celularidad.

La maduración del tejido cicatrizado puede tomar meses o hasta años. Durante este proceso, la mayoría de vasos sanguíneos, fibroblastos y células inflamatorias desaparecen del sitio afectado ya sea por migración, apoptosis u otro mecanismo de muerte celular (Oliveira-Gonzalez *et al.*, 2016). Las heridas curadas no son capaces de restaurar por completo la calidad estructural del tejido intacto. La capacidad para aproximarse similarmente al tejido original depende en gran medida del tamaño, profundidad, ubicación y el tipo de herida, así como del estado nutricional, el cuidado de la herida y la salud general del paciente (Teller *et al.*, 2011).

### **I.3. Diferencias entre cicatrización aguda y crónica**

En una herida aguda, todas las fases de cicatrización proceden con normalidad, finalizando debidamente y el tejido es reparado de forma organizada. La cicatrización aguda es un proceso de señalización celular en cascada altamente dinámico y presenta eventos de comportamiento que aseguran el cierre rápido de la barrera afectada. La redundancia de los mecanismos compensatorios asegura que la presencia de pequeñas alteraciones en esta respuesta rara vez causen problemas en la cicatrización de heridas. Sin embargo, una perturbación constante puede ser suficiente para generar en el sistema complicaciones que terminan en una cicatrización excesiva o que no se desarrolle completamente la reparación del tejido. Las heridas que no terminan de sanar después de un tiempo prolongado se conocen como heridas crónicas (Tottoli *et al.*, 2020; Wilkinson *et al.*, 2020).

Una cicatrización crónica sucede cuando en la reparación del tejido se presenta una alteración constante en la cascada de señales celulares y/o fases biológicas, ocasionando que las heridas no sanen adecuadamente. En las heridas crónicas se presenta un estancamiento en una o varias fases de la cicatrización, generalmente en la fase inflamatoria, lo que dificulta

la regeneración tisular e impide que el tejido afectado cicatrice normalmente (Ceilley, 2017; Krzyszczyk *et al.*, 2018; Wilkinson *et al.*, 2020).

#### **I.4. Patologías clínicas en donde se producen defectos en la cicatrización**

Las heridas crónicas afectan a más de 6.5 millones de personas tan solo en los Estados Unidos, con un costo estimado mayor a los 50 mil millones de dólares de manera anual. Además del elevado costo que puede implicar su tratamiento, una herida que no cicatriza debidamente causa pérdida de movilidad y capacidad para realizar tareas diarias, generando una mala calidad de vida (Lanau-Roig *et al.*, 2017; Ellis *et al.*, 2018).

Una cicatrización crónica rara vez sucede en una persona sana y usualmente existe un proceso subyacente. Existen varios factores que pueden afectar las fases de reparación de tejidos como isquemia e hipoxia en el tejido afectado, cirugías, tabaquismo, úlceras, enfermedades vasculares, infección, deficiencia nutricional, radiación, uso de fármacos y diabetes. De estos factores, la diabetes es uno de los factores más preocupantes a nivel mundial, tan solo en Estados Unidos hay más de 20 millones de personas que padecen esta enfermedad y se espera que para el año 2030 sea el doble. La reparación de tejidos puede verse afectada de manera multifactorial, por ejemplo, el envejecimiento y la diabetes predisponen al organismo a una herida crónica; la piel atrofiada como barrera y la reducida hidratación influyen en los cambios de respuesta en los mecanismos de cicatrización, pérdida de resiliencia y aumento a la susceptibilidad de daño. A medida que la población sigue envejeciendo y las tasas de obesidad, diabetes y enfermedades cardiovasculares incrementan, se espera que el número de heridas crónicas en todo el mundo aumente (Janis *et al.*, 2014; Frykberg *et al.*, 2015; Ellis *et al.*, 2018; Wilkinson *et al.*, 2020).

#### **I.5. Tratamientos antiinflamatorios y cicatrizantes**

Durante siglos se han utilizado terapias tradicionales, principalmente por poblaciones rurales de países en desarrollo. Generalmente estas terapias pueden involucrar el uso de compuestos derivados de animales y/o plantas. Las terapias tradicionales mantienen un papel central en

el cuidado de heridas debido a su eficacia clínica, simplicidad y accesibilidad. Estas terapias representan una alternativa rentable para el tratamiento de diversas heridas difíciles de curar (por ejemplo, úlceras, quemaduras y heridas infectadas) al proporcionar una amplia gama de efectos terapéuticos que estimulan el proceso de curación y mejoran la calidad del tejido nuevo. Las terapias tradicionales también pueden combinarse con tratamientos clínicos modernos, lo que permite el desarrollo de tratamientos terapéuticos innovadores que abordan necesidades médicas importantes, como minimizar la resistencia bacteriana, supresión inmunológica y/o reducción del tiempo de cicatrización (Pereira *et al.*, 2016).

Los procesos inflamatorios representan un riesgo debido a que son críticos para el desarrollo de desórdenes y enfermedades complejas como el síndrome metabólico, enfermedades autoinmunes, neurodegenerativas, cardiovasculares y cáncer (Murakami & Hirano, 2012). Los medicamentos tradicionales para inflamaciones agudas y crónicas son variados, los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAIDs, por sus siglas en inglés) son de los más utilizados y destacando el ácido acetilsalicílico (aspirina), ibuprofeno, naproxeno, y ketoprofeno por mencionar algunos. El mecanismo antiinflamatorio de los NSAIDs consiste en la inhibición de la actividad enzimática de las ciclooxigenasas (COX), responsables de la producción de prostaglandinas y tromboxano A<sub>2</sub>. La supresión de las COX puede generar efectos secundarios como agregación plaquetaria, desordenes gastrointestinales, úlceras, toxicidad renal, problemas cardiovasculares y la muerte. Los glucocorticoides son otro grupo de fármacos muy efectivos que se unen a receptores específicos, inhibiendo vías de señalización como AP-1 y NF- $\kappa$ B, regulando consecuentemente la producción de citocinas. Aunque son bastante efectivos, los efectos secundarios de los glucocorticoides pueden ser severos: úlceras, sangrados gastrointestinales, infecciones, inmunosupresión y daño óseo (Li *et al.*, 2017)

Abordar las complicaciones de la cicatrización crónica es un desafío en medicina debido al proceso de curación con múltiples vías de señalización celular. Para promover la reparación del tejido en una herida crónica se debe procurar de imitar las condiciones idóneas para su progreso. Para optimizar la reparación, la herida debe mantenerse limpia, presentar tejido granuloso y estar libre de infecciones (Powers *et al.*, 2016). Existen numerosas estrategias para el tratamiento de heridas crónicas como auto/aloinjertos, biomateriales, fármacos, apósitos, entre otros. Varios tipos de fármacos están disponibles como agentes

cicatrizantes. El efecto de un fármaco sobre la herida dependerá de su mecanismo de acción, dosis y vía de administración en relación con la fase de cicatrización. Los fármacos derivados de la plata, (por ejemplo: nitrato de plata) son considerados como el estándar de oro en el tratamiento de heridas por su efecto antimicrobiano. Sin embargo, tiene efectos adversos como resistencia bacteriana, decolora el tejido y debe aplicarse múltiples veces al día para mantener una concentración suficiente. Otras sustancias comúnmente utilizadas son los antimicrobianos, metilxantinas, retinoides, prostaciclina, los antagonistas de calcio, corticosteroides sistémicos, minerales y analgésicos. Estos medicamentos, sin embargo, no están exentos de inducir efectos secundarios, algunos de los cuales pueden dificultar el proceso de cicatrización (Karukonda *et al.*, 2000; Warriner *et al.*, 2005).

El uso de apósitos se ha preferido en los tratamientos de heridas crónicas porque aportan un ambiente cálido y de humectación, además pueden adicionarse fármacos como antimicrobianos. Otros tratamientos que están ganando popularidad son los sustitutos biosintéticos de piel, aplicación de presión reducida, y terapia de factores de crecimiento. Sin embargo no son completamente eficaces (Ceilley, 2017; Mir *et al.*, 2018; Nour *et al.*, 2019).

## **I.6. Propiedades medicinales de plantas**

Se han encontrado plantas de gran importancia por las propiedades medicinales y nutricionales de compuestos bioactivos presentes en ellas. El uso de fármacos y suplementos derivados de plantas y productos vegetales ha estado presente en la historia de la humanidad (Arciniega-Carreón *et al.*, 2020). Desde la antigüedad las plantas medicinales han sido utilizadas como una alternativa terapéutica para tratar diversas enfermedades. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), entre el 65-80% de la población de países en desarrollo recurre a plantas medicinales como remedio. La demanda de la medicina tradicional ha aumentado con el uso de plantas medicinales, destacándose su uso aún en presencia de tratamientos alopáticos. Esto puede deberse al creciente interés, relación costo-efecto, aceptación cultural, percepción de seguridad y disponibilidad. Asimismo, más de la cuarta parte de los fármacos actuales derivan de plantas o de la síntesis de productos naturales (WHO, 2013a; Palhares *et al.*, 2015). Diversas etnias en todo el mundo recurren a las plantas

medicinales para tratar padecimientos como lesiones, infecciones y/o enfermedades. En México, las plantas medicinales tienen un uso y aceptación social e incluso por profesionales de la salud. Entre las plantas que se utilizan medicinalmente en México se encuentra la hierba buena (*Mentha spicata*), jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), granada (*Punica granatum*), la calabaza (*Cucurbita pepo*) entre otros. La síntesis de metabolitos les otorga a las plantas validez científica para utilizarse en terapias contra distintos padecimientos. Estos compuestos son biosintetizados naturalmente y se conocen varios tipos como los alcaloides, cumarinas, saponinas, esteroides y terpenos (Shah *et al.*, 2014; Alonso-Castro *et al.*, 2017; Shedoeva *et al.*, 2019).

La familia Cucurbitaceae tiene una variedad de especies conocidas y domesticadas para beneficio humano. Existen especies en esta familia con evidencia científica sobre sus propiedades medicinales (Reimers *et al.*, 2019; Salehi *et al.*, 2019).

### **I.7. *Ibervillea sonora***

En la familia de las Cucurbitaceae se encuentra el género de *Ibervillea*, que es conformado por ocho especies con características similares (*I. fusiform*, *I. maxima*, *I. hypoleuca*, *I. guatemalensis*, *I. millspaughii*, *I. lindheimeri*, *I. tenuisecta* e *I. sonora*) distribuidas desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de centroamérica, la mayoría presente en México. *Ibervillea sonora* (S. Watson) Greene, comúnmente conocida como “wereke” o “guareque”, se encuentra en climas semiáridos del noroeste de México (Kearns, 1994; Lira-Saade, 2001; Schaefer *et al.*, 2010).

*I. sonora* es considerada un bejuco trepador perene, sobresale la raíz de aspecto tuberculoso y tiene tallos delgados. El fruto es ovoide de (3-5 cm de largo), presenta un color verde con franjas oscuras y puntos blancos, al madurar el color se torna naranja, amarillo o rojo, dependiendo de su estado de madurez. El fruto posee numerosas semillas color negro. Cuando florece en primavera, presenta pétalos de color amarillo de un diámetro de 4-5 mm (Arredondo-Gómez, 2005).

La raíz se considera morfológicamente como tuberosa debido a que presenta una rizodermis a nivel histológico, abundante parénquima interno y un sistema vascular disperso

característico de raíces tuberosas de dicotiledóneas con crecimiento secundario. Además, carece de escamas, nudos y entrenudos. Tradicionalmente, diversos grupos étnicos utilizan la raíz de *I. sonorae* para tratar de manera empírica diversos padecimientos (Estrada-Zúñiga *et al.*, 2012; Sinagawa-García *et al.*, 2015).

*I. sonorae* es utilizada de manera medicinal por grupos étnicos como los Mayos, Ópatas, Seris y Yaquis para tratar afectaciones de la piel, úlceras estomacales, artritis, reumatismo, enfermedades cardíacas, heridas, diabetes y cáncer. Actualmente, su consumo ha ido en aumento como alternativa terapéutica eficiente para tratar la diabetes mellitus (Alarcon-Aguilar *et al.*, 2002; Morales *et al.*, 2012; Estrada-Zúñiga *et al.*, 2012; Jardón-Delgado *et al.*, 2014; Zapata-Bustos *et al.*, 2014; Torres-Moreno *et al.*, 2019).

#### I.7.1. Actividades biológicas de *Ibervillea sonorae*

El uso de *I. sonorae* para tratar enfermedades en la medicina tradicional ha atraído el interés científico para estudiar su potencial biológico. Se ha reportado que extractos, fracciones o compuestos obtenidos de *I. sonorae* poseen actividad hipoglucemiante, antiinflamatoria, antitumoral, antioxidante, antimicrobiana, antifúngica, antiproliferativa e inductora de apoptosis (Tabla 1) (Alarcon-Aguilar *et al.*, 2002, 2005; Ruiz-Bustos *et al.*, 2009; Robles-Zepeda *et al.*, 2011; Ángel Jardón-Delgado, 2014; Zapata-Bustos *et al.*, 2014; Sinagawa-García *et al.*, 2015; Núñez-Gastélum *et al.*, 2018; Torres-Moreno *et al.*, 2019; Vidal-Gutiérrez *et al.*, 2020).

**Tabla 1.** Actividad biológica reportada de *Ibervillea sonorae*.

<b>Efecto Biológico</b>	<b>Parte de la planta</b>	<b>Tipo de extracto</b>	<b>Sujeto experimental</b>	<b>Dosis</b>	<b>Esquema de evaluación</b>	<b>Resultados</b>	<b>Referencia</b>
Hipoglucemiante	Raíz	*DL	Ratones CD1 normoglucémicos y diabéticos	150 – 850 mg/kg, p.o, i.p.	Glu sérica en un periodo de 360 minutos	Sanos, 600 mg/kg: reducción de 24.2%. Diabéticos: sin efecto	Alarcón-Aguilar <i>et al.</i> , 2002
		DL	Ratones CD1	300 y 600 mg/kg, i.p	Glu sérica en un periodo de 360 minutos	600 mg/kg reducción de 39.8%	
		DCM	Ratones CD1 normoglucémicos y diabéticos	300 y 600 mg/kg, i.p.	Glu sérica en un periodo de 360 minutos	Sanos: 600 mg/kg, reducción de 70.9%, Diabetes: 300 mg/kg, murió el 100%	
	Raíz	DCM	Ratas Wistar diabéticos	300 mg/kg, p.o.	Administración diaria durante 41 días. Monitoreo del peso corporal y los niveles de Glu, AU, TGO, TGP, Col y Tri en plasma	Peso aumento de 17% Glu reducción de 13.5 % AU reducción de 52.2 % TGO aumento de 6.9 % TGP aumento de 29.3% Col reducción de 52.8% Tri reducción de 3.2%	Alarcón-Aguilar <i>et al.</i> 2005
		EM	Ratones CD1 Normoglucémicos	i.p. 300 y 600 mg/kg	Glu sérica durante un periodo de 360 minutos	300 mg/kg: reducción de 7.4% 600 mg/kg: reducción de 22.3%	
	Raíz	EA	Ratones ICR	100, 200 y 400 mg/kg, p.o.	HFF durante 8 semanas más tratamiento. Posteriormente se miden niveles séricos de Glu, perfil de lípidos y un	400 mg/kg y 400 mg/kg más HFF, respectivamente. Glu reducción de 43.4 y 45.9%, Tri reducción	

					ensayo de peroxidación hepática.	de 32.3 y aumento de 43.5%, Col reducción de 17.1 y 18.8%, HDLc reducción de 62.9 y 21.1%, LDLc aumento de 45.3 y reducción de 17.3%	
	Raíz	DCM, EM, Agua	Ratones ICR normolipémicos e hiperlipémicos	150, 300 y 600 mg/kg, p.o.	Niveles séricos de perfil de lípidos, Glu y perfil hepático después de 28 días de tratamiento.	DCM, EM y agua (600 mg/kg): Glu aumento de 46.3, 143 y 109.4%. Tri: reducción de 32.3, aumento de 16.1, reducción de 5.7%. Col: reducción de 8.9, aumento de 3.4, 6.5%, HDLc reducción de 9.0, 5.5 y 9.7%. LDLc: reducción de 32.2, aumento de 15.8 y reducción de 5.9%	Pazos-Guarneros et al, 2009 (tesis)
Hipoglucemiante	Raíz	MA, ML, IA e IL	Células gliales de Bergmann	50 µg/ml	Efecto sobre el transporte de Glu en células gliales de Bergmann.	Captación de Glu de MA, ML, IA e IL, respectivamente: aumento de 61.8, 60, 64, 141.9%.	Hernández-Díaz, 2011 (tesis)
	Raíz	MA, ML, IA, IL	Ratones CD1, Ratas Wistar	LD <sub>50</sub> 200-1000 Glu 400 mg/kg, i.p.	LD <sub>50</sub> de extractos y actividad hipoglucemiante <i>in vivo</i> de ML.	DL <sub>50</sub> de MA, ML, IA e IL, respectivamente: 1173, 963, 1140 y 1061.1 mg/kg. Glu de ML: reducción de 16.5%	Hernández-Díaz, 2011 (tesis)

	Raíz	EA	Ratones CD1 sanos y diabéticos	250 mg/día, p.o.	Efecto sobre niveles de Glu y Tri después de 30 días de tratamiento	Diabéticos: Glu reducción de 45.8% y Tri reducción de 39.8%	Banderas-Dorantes <i>et al.</i> , 2012
Antiinflamatorio	Raíz	EHE y Frac	Células RAW 264.7	EHE: 25-50 Frac. 5-10 µg/ml	Efecto antiinflamatorio de los extractos en la producción de óxido nítrico y TNF-α	ON y TNF-α de EHE y Frac, respectivamente: ON: reducción de 17.7 y 47.3%. TNF-α: Sin efecto en ambos tratamientos.	Nevárez-Ramírez, 2014 (tesis)
			Ratones CD1 hembras	Ext.: 25, Frac: 25 mg/ratón, p.o.	Efecto antiinflamatorio en modelo de edema murino inducido con aceite de crotón	Reducción de la inflamación de EHE y Frac, respectivamente: disminución de 54.5 y 53.4%	
	Raíz	EM	Células RAW 264.7	6.25-50 µg/ml	Efecto sobre la producción de óxido nítrico y TNF-α.	ON y TNF-α de frutos y raíz, respectivamente (%): ON: reducción de 70 y 70. TNF-α: solo frutos mostró efecto, reducción de 30 %	Torres-Moreno <i>et al.</i> , 2019
	Frutos						
	Raíz	EA	Ratones albinos machos	Pomadas con 10, 20, 30 y 40% de extracto	Efecto antiinflamatorio sobre edema auricular inducido por aceite de crotón al 5% por vía tópica	La pomada con 40% del extracto: disminución de 46.21%	Ramírez-Sotelo <i>et al.</i> , sin especificar
	Raíz	KD	Ratones CD1	1 mg/oreja	Efecto antiinflamatorio en modelo de edema inducido por TPA	KD: reducción de 41%	Jardón-Delgado <i>et al.</i> , 2013
	Raíz	KA y CIIB	Células RAW 264.7	3.1-50 µg/ml	Efecto antiinflamatorio de los extractos en la producción de óxido nítrico y TNF-α	ON y TNF-α (%) de KA, CIIB y KA+CIIB respectivamente. ON: reducción de 64.3, 61.7 y 66.4.	Estrada-García, 2019 (tesis)

						TNF- $\alpha$ : -47.8, sin efecto y 36.1	
Antitumoral	Raíz	CIIb, FP EtOH y FP EtOAc	Ratones atímicos	200 $\mu$ L, subcutáneo	Inhibición de las muestras en xenoinjertos de células tumorales en ratones inmunosuprimidos	Inhibición de CIIb, frac. EtOH y frac. EtOAc; respectivamente: reducción de 70, 86 y 68%	Vidal-Gutiérrez, 2020 (tesis)
			Células HeLa	CIIb 30 $\mu$ M. Frac 30 y 50 $\mu$ g/mL	Efecto antiproliferativo	ED <sub>50</sub> de CIIb, FP EtOH y FP EtOAc, respectivamente: 5.8 $\mu$ M, 33 $\mu$ g/mL y 18.6 $\mu$ g/mL.	
Anti proliferativo	Raíz	EM	Líneas celulares: HeLa, RAW 264.7, A549 y L929	6.25 - 50 $\mu$ g/ml	Efecto antiproliferativo	IC <sub>50</sub> de raíz y fruto, respectivamente: 3.1 y 3.6 $\mu$ g/ml	Torres-Moreno <i>et al.</i> , 2019
	Frutos	EM		6.25 - 50 $\mu$ g/ml		IC <sub>50</sub> de raíz y fruto, respectivamente: 3.1 y 3.6 $\mu$ g/ml	
	Raíz	KA y KBD	Líneas celulares: HeLa, M12AK.C3F6, A549 y RAW 264.7	0 - 50 $\mu$ g/ml	Efecto antiproliferativo	IC <sub>50</sub> de KA: 61.5 Mm KBD, sin actividad hasta 100 $\mu$ M	Torres-Moreno <i>et al.</i> , 2015
Antioxidante	Callo	EM y EH	Cultivos celulares	500 $\mu$ l	Se generaron cultivos celulares a partir de callos y se determinaron las concentraciones de á. grasos y fenoles	Á. grasos, contenido fenólico y EC50 de callo: 48.57 mg g <sup>-1</sup> , 57.1 mg GAE g <sup>-1</sup> y 573.3 $\mu$ g mL <sup>-1</sup>	Estrada-Zuñiga <i>et. al.</i> , 2012
	Raíz	EM acuoso (80%)	-	5 mg/ml extracto EM al 80%	Efecto antioxidante determinando contenido total de fenoles y mediante las técnicas de DPPH, ABTS, FRAP.	Contenido total de fenoles: >10 mg EAG/g. Actividad antioxidante en 20, 46.15 y 16.49 $\mu$ mol	Nuñez-Gastelum <i>et. al.</i> , 2018

						ET/g para DPPH, ABTS y FRAP	
	Raíz	EM	-	1 -100 µg/mL	Efecto antioxidante determinando el contenido total de fenoles y mediante las técnicas de FRAP, DPPH	Reducción de radicales libres en DPPH: Frutos: 82%, raíz: 70%. En FRAP, raíz tiene el mejor efecto (365.5 µM Fe(II)/g)	Torres-Moreno <i>et al.</i> , 2019
	Frutos		-	1 -100 µg/mL			
Apoptosis	Raíz	KA y KBD	Células HeLa	0 – 50 µM/mL	Inducción de apoptosis de doble tinción con anexina V-FITC (AN)/ioduro de propidio (PI)	Solo KA presenta apoptosis:45.9%	Torres-Moreno <i>et al.</i> , 2015
	Raíz	CIIb	Líneas celulares: HeLa y A549	1.56–100 µM/mL	Inducción de apoptosis de doble tinción con anexina V-FITC (AN)/ioduro de propidio (PI)	Inducción de apoptosis en Hela y A549, respectivamente: 56.9 y 52.3%	Torres-Moreno <i>et al.</i> , 2015
Toxicidad	Raíz	Hexano, DCM, EtOH, y agua	Líneas celulares: T47D y HeLa	0 - 1500 µg/ml	Efecto citotóxico	ED <sub>50</sub> < 20µg/ml	Vega-Ávila <i>et al.</i> , 2009
	Raíz	EM, Frac Hexano y Frac EtOAc	Células L5178Y-R	7.81 - 500 µg/mL	Efecto citotóxico	EM, Frac EtOAc, Frac Hexano (500 µg/mL): 63, 73 y 76%	Quintanilla-Licea <i>et al.</i> , 2016

\*DCM: diclorometano. p.o.: vía oral. p.i.: vía intraperitoneal. EA: extracto acuoso. EHE: extracto hidroetanólico. Frac: fraccionado. EM: extracto metanólico. EH: extracto hexanólico. HFF: dieta alta en grasa y fructosa. Glu: glucosa. AU: á. úrico. TGO: aspartato aminotransferasa. TGP: alanina aminotransferasa. Col: colesterol. Tri: triglicéridos. HDLC: colesterol de lipoproteínas de alta densidad. LDLC: colesterol de lipoproteínas de baja densidad. KA: kinoína A. KBD: kinoína B diglucósido. CIIb: cucurbitacina IIB. FP: fitopreparado. EtOH: etanol. EtOAc: acetato de etilo. DL: Decocción liofilizada. MA: maceración y aspersion. ML: maceración y liofilización. IA: infusión y aspersion. IL: infusión y liofilización. DL<sub>50</sub>: dosis letal 50. ED<sub>50</sub>: dosis efectiva 50.

## I.7.2. Composición química de los extractos

Los estudios sobre la composición química de *I. sonorae* han reportado una amplia variedad de metabolitos secundarios, destacando el trabajo de maestría de García-Aranda dónde se realizó un análisis fitoquímico cualitativo de los EM y etanólico (EtOH) de la raíz de *I. sonorae*. Los metabolitos secundarios reportados fueron cumarinas, sesquiterpelactonas, azúcares reductores, quinonas, taninos, saponinas, alcaloides y flavonoides. La presencia de estos metabolitos presentes en la raíz le otorgan a *I. sonorae* un gran potencial como planta medicinal. Tanto flavonoides como taninos se les atribuye un efecto hipoglucemiante y son capaces de interactuar con radicales libres (García-Aranda *et al.*, 2013; Al-Ishaq *et al.*, 2019). Las cumarinas son una familia de benzopirinas y presentan una amplia actividad biológica; antioxidante, antimicrobiana, antifúngica, anticancerígeno, hipoglucemiante, analgésica y antiinflamatoria (Matos *et al.*, 2015). Las sesquiterpelactonas son compuestos que poseen un anillo  $\gamma$ -lactona con un grupo  $\alpha$ -metileno, a las que se les atribuye un efecto anticancerígeno y citotóxico (Suárez-Medina *et al.*, 2016). Los alcaloides son moléculas que contienen al menos un átomo de nitrógeno, usualmente en un anillo; se les atribuye una actividad antiinflamatoria, anticancerígena, analgésica, anestésica, antimicrobiana, entre otros (Kurek, 2019). Las saponinas son compuestos triterpoides o esteroides a los que se les atribuye un efecto antimicrobiano, antitumoral, hepatoprotector, hemolítico y antiinflamatorio (Moghimipour *et al.*, 2015).

Adicionalmente, se han identificado distintos compuestos en *I. sonorae* que pueden ser responsables de los efectos reportados en sus extractos (Tabla 2). Los compuestos que han sido identificados son principalmente alcoholes, alcanos, ésteres, aromáticos, alquenos cíclicos, amidas y ácido palmítico (Morales *et al.*, 2012).

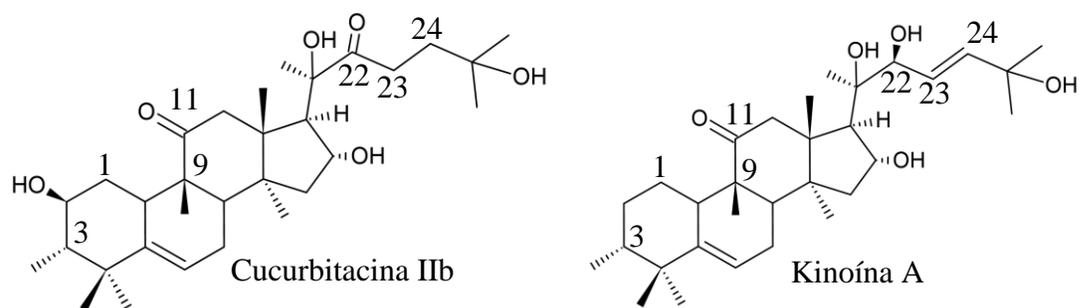
**Tabla 2.** Compuestos identificados en *Ibervillea sonora* con potencial biológico.

No.	Nombre	No.	Nombre
1	Pentanamida	20	5-Metil-2-carboximetil ciclopentanona
2	4-Metil-3-penten-2-ol	21	1-Ciclopentil-5-metilhex-2-en-1-ona
3	4-hexen-3-ona	22	4,5-Dimetilnonano
4	3-Hexen-2-ona	23	Vinilbenceno
5	3-Metil-2-ciclopentenona	24	N,N-Dibutilformamida
6	3-Metilhexano	25	Hexadecanoato de metilo
7	2-Metilpentan-2,3-diol	26	Etanoato de n-butilo
8	4-Metilpentan-1,4-diol	27	1,3-Dimetilbenceno
9	2-Metil-2-pentenol	28	1,2-Dimetilbenceno
10	3,5-Dimetil-4-hidroxi-2-hexanona	29	1-Metil-4-isopropenilciclohexeno
11	2-Metil-4-hidroxi-3-heptanona	30	Ácido hexadecanoico
12	1-Etoxi-3-metil-2-penteno	31	2-Butenoato de n-butilo
13	2-Metilhepten-3-ol	32	1,3,5-Trimetilbenceno
14	3,4-Dimetilhexa-2-ona	33	2-Metil-6-etildecano
15	Decano	34	Kinoína A
16	3-Metilenciclopenteno	35	Kinoína B
17	Undecano	36	Kinoína B diglucósido
18	Dodecano	37	Kinoína C
19	2-Butenoato de isopropilo	38	Cucurbitacina IIb

Morales *et al.*, 2012; Jardón-Delgado *et al.*, 2014, Torres-Moreno *et al.*, 2015; Torres-Moreno *et al.*, 2020.

También se han aislado de la raíz compuestos tipo cucurbitacina, conocidos por su actividad anticancerígena y antiinflamatoria. Se ha demostrado la capacidad de cucurbitacina IIb (CIIb) para inducir un efecto antiproliferativo y apoptótico sobre dos líneas celulares cancerígenas (HeLa y A549) (Hussain *et al.*, 2018; Torres-Moreno *et al.*, 2020). Adicionalmente, CIIb y kinoína A (KA) (Figura 2) demostraron una capacidad para reducir

los niveles de ON, sin embargo, solamente KA disminuyó las concentraciones de TNF- $\alpha$  producidas por células tumorales murinas RAW 264.7 sin presentar citotoxicidad en la mayor concentración evaluada 50  $\mu\text{g/mL}$  (Estrada-García *et al.*, 2019).



**Figura 2.** Estructura molecular de cucurbitacina IIb y kinoína A. Ambos compuestos poseen un esqueleto tetracíclico de 30 átomos de carbono. CIIb (izquierda) posee un grupo hidroxilo en el carbono 2, y un oxígeno en el carbono 22. KA (derecha) carece de grupo en el carbono 2 pero posee un grupo hidroxilo en el carbono 22 y un doble enlace entre los carbonos 23 y 24.

## II. JUSTIFICACIÓN

Actualmente existe la necesidad de obtener nuevos productos como alternativa a los tratamientos actuales de enfermedades inflamatorias y de heridas que promuevan la regeneración de tejido. En este contexto, *Ibervillea sonora* es una especie que posee un gran potencial por los fitoquímicos presentes en dicha planta. Estudios anteriores han demostrado que el extracto metanólico de la raíz posee un gran efecto biológico. Esto ha generado un creciente interés en evaluar la actividad antiinflamatoria, el potencial cicatrizante y toxicidad *in vivo* de los extractos metanólicos de la raíz de *Ibervillea sonora*.

### **III. OBJETIVO**

#### **III.1. Objetivo general**

Evaluar la actividad antiinflamatoria y cicatrizante *in vivo* de extractos metanólicos de la raíz de *Ibervillea sonora*.

#### **III.2. Objetivos específicos**

- Evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de la raíz de *Ibervillea sonora* sobre edema auricular inducido por TPA (13-acetato de 12-tetradecanoilforbol) en un modelo murino.
- Evaluar el efecto cicatrizante de extracto metanólico de la raíz de *Ibervillea sonora* por vía tópica en un modelo murino.
- Evaluar la toxicidad oral aguda del extracto metanólico de la raíz de *Ibervillea sonora*.

## **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **IV.1. Recolección e identificación de material vegetal**

La muestra no probabilística de la raíz de *I. sonorae* fue colectada en Hermosillo, Sonora, México (29°08'56.7 N, 110°56'41.6 W; 380 m.s.n.m) durante el mes de septiembre de 2019. La planta *I. sonorae* fue identificada en el herbario de la Universidad de Sonora por el Ing. Jesús Sánchez Escalante, dejándose una muestra en el herbario con el número de voucher 29337.

### **IV.2. Generación de los extractos metanólicos de *Ibervillea sonorae***

Las muestras de la raíz se secaron a la sombra a temperatura ambiente. (1.6 kg) fueron pulverizadas utilizando un molino Wiley, obteniendo un polvo fino al cual se le adicionó metanol (1:10 p/v) y se mantuvo a temperatura ambiente y privado de luz por 10 días, agitando ocasionalmente. El extracto fue filtrado utilizando papel Whatman No. 1 y secado en un evaporador rotatorio (Yamato RE300) a 45 °C bajo presión reducida para generar el extracto metanólico crudo (EMR). El EMR fue almacenado a 4°C hasta su uso (Torres-Moreno *et al.*, 2020).

### **IV.3. Animales de experimentación**

Para llevar a cabo la evaluación del efecto antiinflamatorio y cicatrizante *in vivo* se emplearon ratones albinos machos de la cepa CD1, para la prueba de toxicidad se utilizaron ratones albinos CD1 hembras proporcionados por el bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM). Los ratones presentaban una edad entre 13 – 15 semanas, un peso corporal de alrededor de 28-40 g y mantenidos en condiciones

de esterilidad, con un ciclo 12/12 horas de luz/oscuridad y una temperatura de 24°C. Se les proporcionó alimento y agua *ad libitum*.

Todos los procedimientos experimentales se manejaron bajo la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-199 y el protocolo aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Universidad de Sonora (CEI-UNISON).

#### **IV.4. Fármacos y reactivos**

La realización de este trabajo consistió en la evaluación del efecto antiinflamatorio y cicatrizante del EMR de *I. sonorae*. En todos los protocolos los ratones fueron inducidos con anestesia ketamina (100 mg/kg) y xilazina (10 mg/kg) o pentobarbital (63 mg/kg) de acuerdo con lo indicado por el protocolo. Para llevar a cabo el modelo antiinflamatorio fue necesario el uso de EtOH como disolvente para una aplicación tópica del EMR de *I. sonorae*. Se utilizó el fármaco indometacina como control positivo a la concentración de 1 mg/oreja. La inducción del edema auricular consistió en la administración de TPA (13-acetato de 12-tetradecanoilforbol) a una concentración de 2.5 µg/µL por oreja. Para la obtención de sangre periférica se utilizó heparina (1000 UI/mL) como anticoagulante.

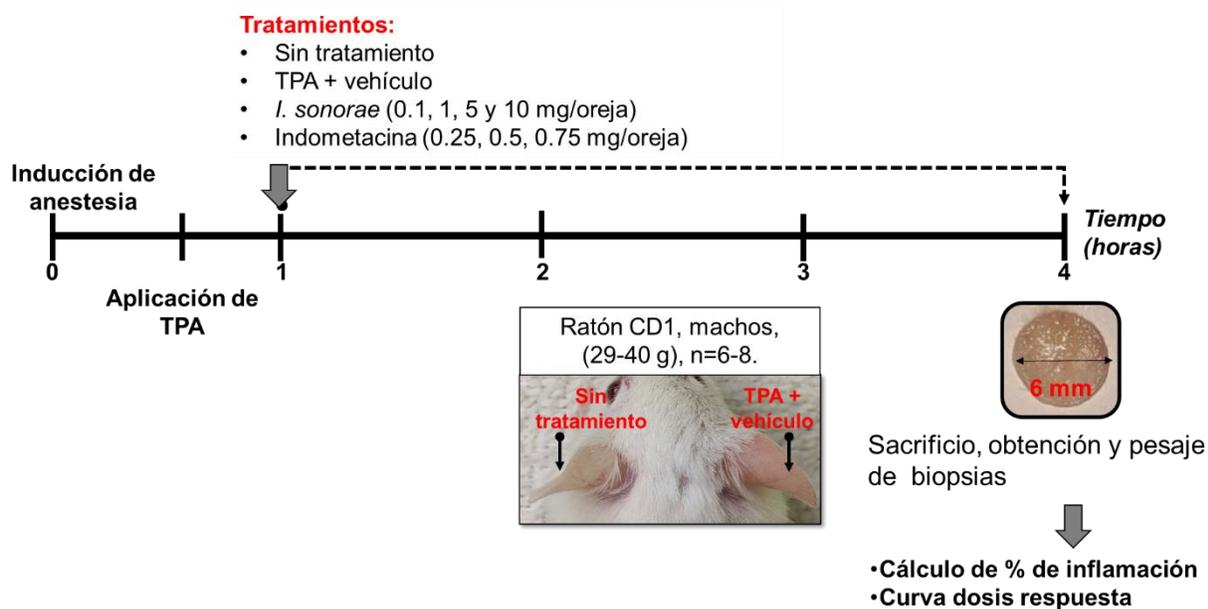
El modelo de cicatrización se realizó aplicando sobre el tejido afectado el EMR de *I. sonorae*, utilizando solución salina fisiológica al 0.9% como vehículo. Tanto la Indometacina como el EMR de *I. sonorae* fueron preparados el día de experimentación.

#### **IV.5. Modelo de edema auricular inducido por TPA**

La actividad antiinflamatoria fue determinada utilizando el modelo de edema auricular inducido por TPA (Figura 3). Los ratones fueron anestesiados con pentobarbital (63 mg/kg) por vía intraperitoneal y después se les cortó el pelo que colinda con las orejas para que no interfiera con los tratamientos. La inducción del edema se realizó agregando TPA (2.5 µg/oreja) (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA) y EtOH (control negativo). Posterior a la aplicación de TPA (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA), se administró diclofenaco

(1 mg/oreja) disuelto en EtOH al grupo control positivo. El EMR de *I. sonorae* (0.1-10 mg/oreja) disuelto en EtOH fue aplicado por vía tópica en la oreja tratada. Una vez agregado el TPA en cada pabellón de la oreja (5 µL/pabellón), se aplicaron los tratamientos (TPA y vehículo, *I. sonorae* e indometacina) en un volumen de 20 µL/oreja (10 µL/pabellón). Al transcurrir 4 horas se sacrificaron los animales por sobredosis de anestesia y se obtuvo una biopsia circular de ambas orejas (con y sin tratamiento) con un sacabocado (6 mm de diámetro). Las biopsias de ambas orejas (oreja izquierda control basal y derecha oreja con tratamiento) fueron pesadas en una balanza analítica para obtener el porcentaje de inflamación utilizando el siguiente cálculo:

$$\% \text{ de inflamación} = \left( \frac{100 * \text{peso de biopsia tratado con EMR}}{\text{peso de biopsia tratada con vehículo}} \right) - 100$$



**Figura 3.** Protocolo para evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de la raíz de *I. sonorae*.

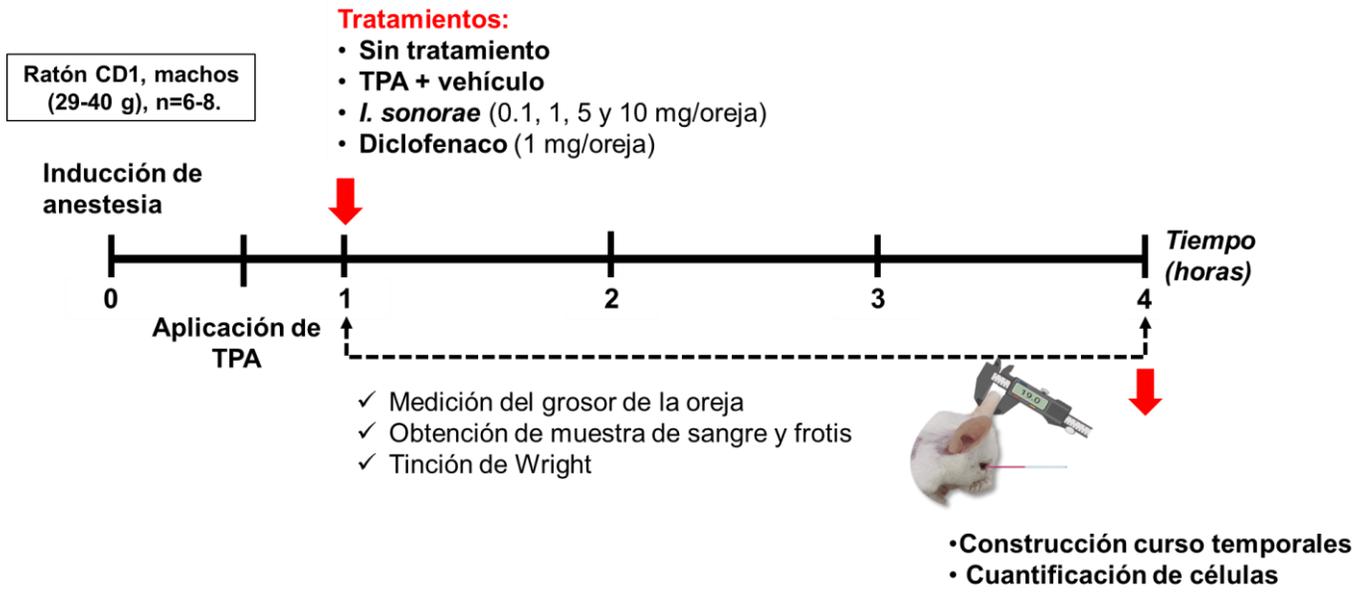
#### IV.5.1. Cuantificación de células

Los tratamientos evaluados pueden afectar la respuesta inmunológica del organismo en un proceso inflamatorio. Teniendo esto en consideración, se tomó sangre periférica de los ratones cada hora en un lapso de 4 horas.

La obtención de sangre consistió en una punción en la región retro orbital utilizando un tubo capilar. En este proceso se aplicó isoflurano sobre el ratón para mantenerlo inconsciente e inmóvil durante la extracción sanguínea. La sangre se obtuvo por capilaridad del seno venoso, llenando el tubo capilar que contiene heparina como anticoagulante. Para generar el frotis sanguíneo, utilizando una micropipeta se tomó del tubo capilar una parte de la muestra sanguínea (3  $\mu$ L) y se colocó una gota en un extremo de un portaobjeto. Con otro portaobjeto se aplicó presión sobre el portaobjetos con la gota de sangre, manteniendo un ángulo aproximado de 45°, de tal manera que la sangre se distribuyera en todo lo ancho del cristal. Se deslizó el portaobjetos hacia el otro extremo del portaobjeto, obteniendo una distribución homogénea de la sangren (Figura 4).

La identificación de las células presentes en los frotis sanguíneos requiere de la tinción Wright. Se colocaron los frotis en una bandeja para realizar tinciones y se les agregó la tinción Wright a los frotis hasta que se cubriera toda la superficie del portaobjetos por un tiempo de 10 minutos. Posteriormente se adicionó buffer de fosfato en los frotis sanguíneos de tal manera que cubrieran toda la superficie del portaobjetos durante 10 minutos. Finalmente fueron lavados con agua común y se dejó escurrir el agua remanente para facilitar su secado.

La cuantificación de células se realizó de manera manual utilizando un microscopio óptico, el conteo diferencial de leucocitos permitió estimar un porcentaje relativo de los leucocitos (monocitos, monocitos, linfocitos, basófilos y eosinófilos) sobre los tratamientos evaluados en el modelo de edema auricular inducido por TPA.

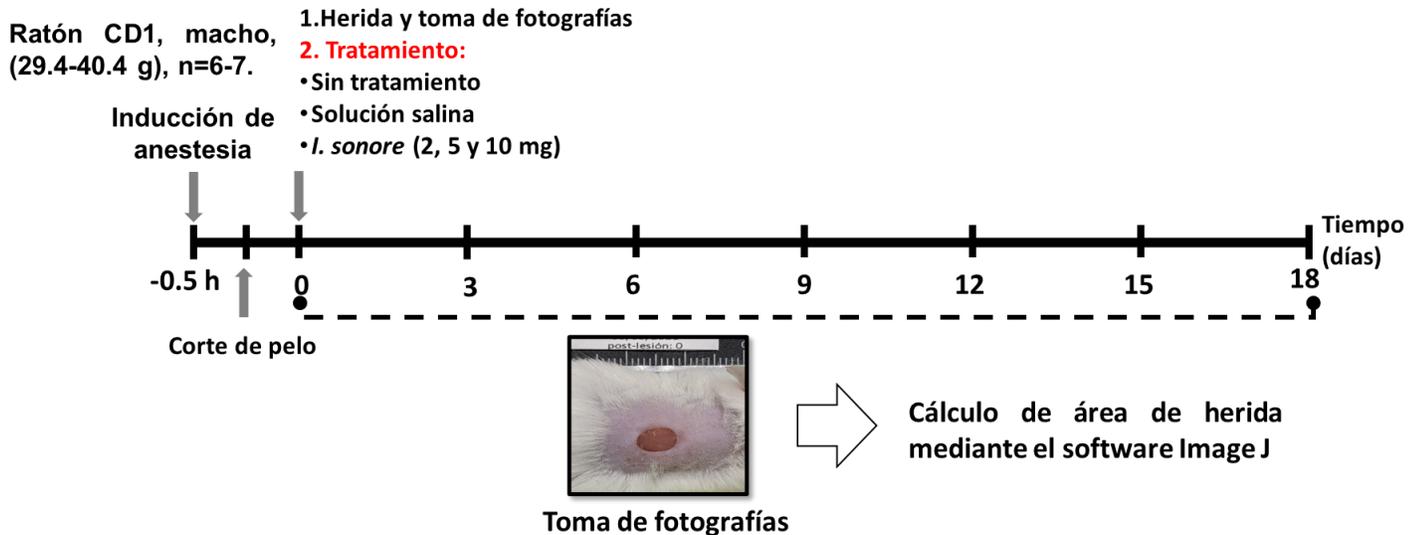


**Figura 4.** Protocolo para evaluar el efecto antiinflamatorio.

#### IV.6. Modelo de cicatrización

Para evaluar el potencial efecto cicatrizante de los tratamientos los ratones fueron inducidos a anestesia con ketamina y xilazina (100/10 mg/kg), intraperitoneal. Posteriormente se rasuró el dorso y se generó una herida con un sacabocados (6 mm). Una vez generada la herida con una micropipeta se administró en la herida los tratamientos evaluados (10  $\mu$ l): sin tratamiento, solución salina fisiológica 0.9% (vehículo), *I. sonora* (2, 5, 10 mg/oreja) e indometacina (1 mg/kg). Se mantuvieron en observación por 4 horas para prevenir algún daño que pudieran autogenerarse en la zona afectada (Figura 5).

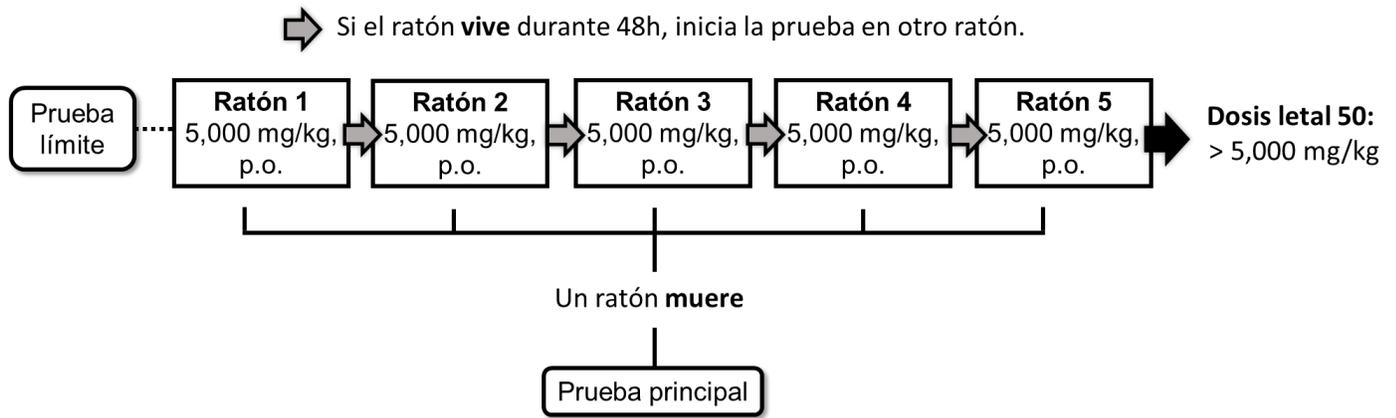
La cinética de cicatrización se registró mediante fotografías que fueron tomadas el día 0, 1 y cada 3 días hasta el día 18 post lesión. El área de la herida se obtuvo mediante un software analizador de imágenes (ImageJ) y se realizaron los cálculos de la cinética de curación de cada tratamiento.



**Figura 5.** Protocolo para evaluar el efecto cicatrizante.

#### IV.7. Toxicidad Oral Aguda

La toxicidad aguda del EMR de *I. sonore* se determinó mediante la prueba de toxicidad oral aguda establecida por la Organización Europea para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD). Se utilizó el método “Up & Down” tiene como finalidad evaluar la toxicidad de la sustancia utilizando el menor número de ratones. El método se basa en dos pruebas: una prueba límite y una prueba principal. Se empieza con la prueba límite, la cual consiste en administrar una concentración alta del EMR de *I. sonore* (5,000 mg/kg), p.o., a un ratón con ayuno previo de 2 horas. Se deja en observación por 48 horas, si el ratón sobrevivió, se administra la misma concentración a otro ratón y se mantiene en observación. Si sobrevive, el proceso se repite sucesivamente con otro ratón, hasta haber evaluado cinco ratones. Si los cinco ratones sobrevivieron se establece que la dosis letal 50 (DL<sub>50</sub>) es mayor a 5,000 mg/kg. En cambio, si un ratón muere, finaliza la prueba límite y se da paso a la prueba principal (Figura. 6).



**Figura 6.** Diagrama del método de la prueba de toxicidad oral aguda establecido por la OECD.

En la prueba principal, se administran distintas concentraciones establecidas por la OECD mediante el método “Up & Down” a los ratones. Como recomendación de la OECD cuando no se conocen antecedentes sobre la toxicidad de la sustancia es iniciar la primera dosis con 175 mg/kg, p.o., manteniéndolo en observación durante 48 horas. La progresión de dosis se basó en unidades medias logarítmicas (correspondiendo a una progresión de dosis con un factor de 3.2) En esta prueba si el ratón vive, se administra una dosis mayor al siguiente ratón. En cambio, si el ratón murió, la siguiente dosis que se administra a otro ratón es menor. Este criterio de “arriba y abajo” se mantuvo durante la evaluación hasta obtenerse una media geométrica para obtener la  $DL_{50}$  del EMR de *I. sonoreae*. En la Figura 6 se observan varios ejemplos de como funciona el método Up & Down para determinar la  $DL_{50}$  de una sustancia (Figura 7).

Dosis (mg/kg)	N° de ratón					Dosis (mg/kg)	N° de ratón					Dosis (mg/kg)	N° de ratón				
	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5		1	2	3	4	5
0.55						0.55						0.55					
1.75						1.75						1.75					×
5.55						5.55						5.55				×	
17.5						17.5						17.5			×		
55						55						55		×			
175	○					175	○					175	×				
550		○		○		550		○				550					
1750			×		×	1750			○			1750					
5000						5000				○	○	5000					

Obtención de  $DL_{50}$  en base a la media geométrica.  $DL_{50} > 5000$  mg/kg  $DL_{50} < 1.75$  mg/kg

**Figura 7.** Ejemplos del método 425 “Up & Down” establecido por la OECD para determinar la  $DL_{50}$  de una sustancia.

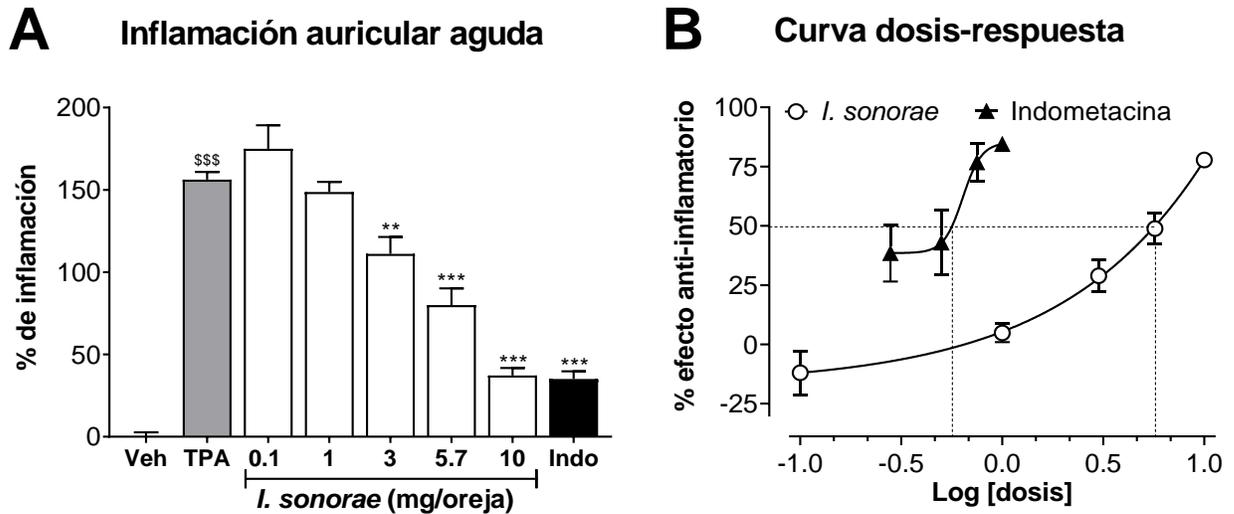
#### IV.8. Análisis Estadístico

Los resultados fueron expresados como la media  $\pm$  error estándar de la media (SEM) de tres experimentos independientes. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), así como una prueba de Bonferroni para poder comparar entre todos los grupos experimentales de un mismo tratamiento. Se consideró que existe una diferencia estadísticamente significativa cuando el valor de  $p < 0.05$ .

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### V.1. Efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de la raíz de *Ibervillea sonora*

El efecto antiinflamatorio de *I. sonora* se determinó mediante el modelo de edema auricular inducido por TPA. Una vez que se aplicó el TPA a la oreja, se administraron diferentes dosis del EMR (0.1 – 10 mg/oreja). Después de un lapso de 4 h, se obtuvo una biopsia de la oreja tratada y otra biopsia de la oreja sin tratamiento, con el objetivo de determinar el % de inflamación y del efecto antiinflamatorio. Los resultados de la inflamación auricular de las dosis de 0.1, 1, 3, 5.7 y 10 mg/oreja de EMR de *I. sonora* fueron de  $174.9 \pm 14.3$ ,  $148.6 \pm 6.1$ ,  $111.0 \pm 10.3$ ,  $79.9 \pm 10.1$  y  $37.2 \pm 4.5\%$  respectivamente. La gráfica de la inflamación auricular aguda permite visualizar el comportamiento de los tratamientos evaluados (figura 8A). La dosis de EMR de *I. sonora* que presentó mayor actividad fue la de 10 mg/oreja. El tratamiento que mantuvo los niveles de inflamación más bajo (32.4%) fue el del control positivo (1 mg indometacina /oreja), por consiguiente, también presentó el efecto antiinflamatorio más alto (84.4%). El EMR de *I. sonora* presenta un efecto dosis-respuesta, siendo la concentración de 10 mg/herida la que posee mejor actividad. El efecto antiinflamatorio se determinó mediante una curva dosis-respuesta, indometacina (1 mg/herida) presentó un efecto antiinflamatorio 84.4%. La dosis de 0.1 mg/oreja no presentó capacidad antiinflamatoria, a diferencia de las concentraciones de 1, 3, 5.7 y 10 mg/oreja de EMR de *I. sonora* que obtuvieron una capacidad antiinflamatoria de  $4.8 \pm 3.9$ ,  $28.9 \pm 6.6$ ,  $48.8 \pm 6.5$  y  $76.1 \pm 2.8\%$ . Una curva dosis-respuesta evidencia el efecto observado de una sustancia en función de su concentración en el compartimento receptor y permite observar la ventana terapéutica de la sustancia, se utiliza la expresión logarítmica de la concentración (Log [dosis]) porque de otra forma sería una gráfica muy amplia, además la curva logarítmica tienen forma sigmoideal y presentan tres propiedades; umbral, pendiente y asíntota máxima, parámetros que cuantifican la actividad de la sustancia (Brunton et al., 2018). La curva dosis-respuesta además permite calcular la dosis efectiva 50 (DE<sub>50</sub>) del EMR de *I. sonora* e indometacina: 4.76 y 0.53 mg/kg, respectivamente (Figura 8B).

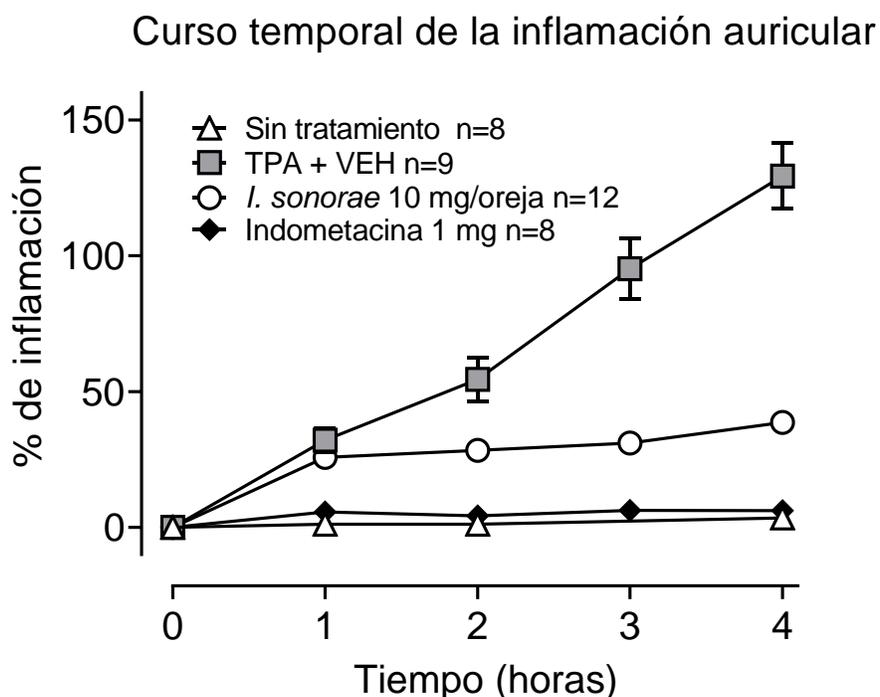


**Figura 8.** Evaluación del efecto antiinflamatorio del EMR de *I. sonoreae* en el modelo de edema auricular inducido con TPA. A) Nivel de inflamación de los grupos tratados con *I. sonoreae*, indometacina, TPA + vehículo y solo vehículo. B) Curva dosis-respuesta del EMR de *I. sonoreae* e indometacina. Cada barra representa el promedio de  $n = 6 \pm \text{SEM}$ . \$\$\$  $P < 0.0001$  con respecto al grupo que no recibió tratamiento (biopsia), \*\* $P < 0.001$ ; \*\*\*  $P < 0.0001$  con respecto al grupo tratado con TPA, por anova de una vía seguido de una prueba de Tuckey.

## V.2. Determinación del curso temporal de la inflamación auricular inducida por TPA.

La determinación del efecto antiinflamatorio del EMR de *I. sonoreae* se realizó midiendo el grosor de la oreja dónde se aplicó TPA, seguido de los tratamientos, durante cada hora en un lapso de 4 h. La oreja sin tratamiento (control basal) no presentó un incremento en el grosor. En el grupo que recibió únicamente el TPA (control negativo), se observó un aumento en el grosor de la oreja gradualmente en cada hora, observándose mayor inflamación 4h después de la administración del TPA. La inflamación inducida por TPA con relación al tiempo inicial fue de  $129.3 \pm 12.1\%$ . La indometacina (1 mg/oreja) se utilizó como control positivo debido a que forma parte de los tratamientos antiinflamatorios actuales. La indometacina demostró buen efecto antiinflamatorio, impidiendo la inflamación del edema auricular, observándose en la hora 4 un porcentaje de inflamación de  $6.1 \pm 1.7\%$ . El grupo que recibió el tratamiento

con *I. sonorae* (10 mg/oreja) demostró un potencial como antiinflamatorio al mantener la inflamación en  $38.6 \pm 3.9\%$  respecto al tiempo inicial (Figura 9).



**Figura 9.** Evaluación del efecto antiinflamatorio del EMR de *I. sonorae*, TPA + vehículo, Indometacina expresado en porcentaje de inflamación. Cada punto representa el promedio  $\pm$  SEM de tres experimentos independientes. \* $p < 0.05$ , ANOVA de una vía; post hoc de Bonferroni con respecto al vehículo de los tratamientos.

Los resultados obtenidos en este estudio son consistentes con los antecedentes de *I. sonorae*. Se ha reportado un potencial antiinflamatorio del EHE (25 mg/ratón) y subfracción de EHE (25 mg/ratón) al administrarse p.o. en un modelo de edema murino inducido con aceite de crotón, inhibiendo la inflamación en un 54.5 y 53.4%, respectivamente (Nevárez-Ramírez, 2017). De igual manera, se ha evaluado la capacidad antiinflamatoria del extracto acuoso proveniente de la raíz al aplicarse de manera tópica en un modelo de edema murino inducido con aceite de crotón, reduciendo el edema en un 46.2%. También se ha estudiado la capacidad del EHE, subfracción de EHE y EMR de *I. sonorae* y su capacidad de inhibir la producción de ON en macrófagos murinos (RAW 264.7), reduciendo los niveles de ON en

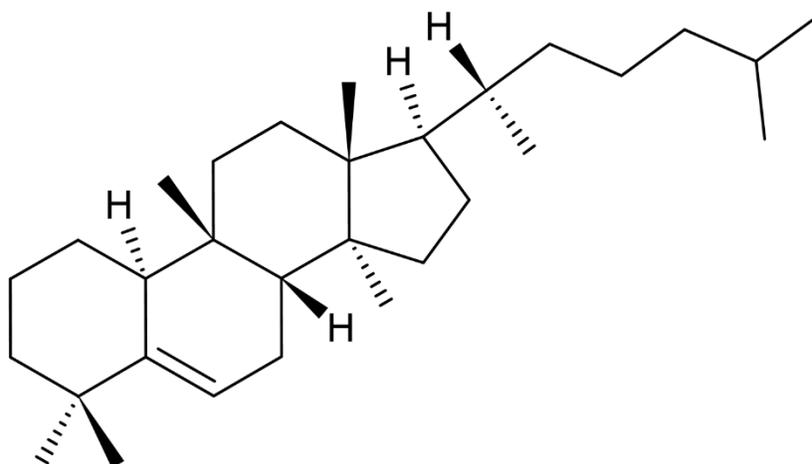
un 17.7, 47.2 y 70%, respectivamente (Nevárez-Ramírez, 2017; Torres-Moreno *et al.*, 2019). Lo anterior sugiere que la aplicación tópica del EMR de *I. sonorae* posee buen potencial para inhibir la inflamación del edema auricular inducido con TPA.

El modelo de edema inducido por TPA es utilizado para evaluar la respuesta inflamatoria, el TPA es un éster de forbol que al ser aplicado en la piel es capaz de inducir inflamación dérmica, hiperproliferación celular e hiperplasia epidermal debido a que activa la vía de la proteína C quinasa (PKC), induciendo niveles elevados de prostaglandinas y leucotrienos del ácido araquidónico. Además, promueve la activación de la vía de las MAPK (proteína quinasas activadas por mitógenos), que induce la liberación de citocinas proinflamatorias como IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-8 y MIP-1 $\beta$ , moléculas de adhesión y enzimas, que dan como resultado una migración de leucocitos que son activados en la dermis y la formación del edema. La activación de la PKC es parte integral de las vías de señalización intracelulares y regula distintos procesos celulares, incluyendo la proliferación, diferenciación y migración celular, entre otros (Newton, 2010; Madsen *et al.*, 2016; Ascari *et al.*, 2019; Radaszkiewicz *et al.*, 2020). Para observar la capacidad antiinflamatoria de los productos evaluados, estos primeramente deben ser absorbidos en la superficie de la piel y penetrar las capas epiteliales hasta llegar al sitio afectado. La cantidad del fármaco debe ser suficiente para exhibir un efecto terapéutico, el tamaño molecular debe ser menor a 500 g/mol<sup>1</sup> para atravesar con facilidad el estrato corneo (Hagen *et al.*, 2017).

La indometacina es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE) de referencia y es bastante efectivo al administrarse por la vía tópica, siendo capaz de penetrar la barrera epitelial por su naturaleza lipofílica. La efectividad demostrada en los resultados se debe a su mecanismo de acción que consiste en la inhibición de las dos isoformas de ciclooxigenasas (COX), COX-1 y COX-2, impidiendo así la producción de prostaglandinas (PGEs) (Derry *et al.*, 2016; Lucas, 2016). El potencial biológico de *I. sonorae* observado es similar a otros estudios realizados en especies pertenecientes a la familia cucurbitaceae. El extracto etanólico de *Microsechium helleri* (2 mg/oreja) demostró un efecto antiinflamatorio al aplicarse tópicamente en ratones CD1 machos, inhibiendo en un 54.9% el edema auricular inducido con TPA en (Méndez-Bolaina *et al.*, 2021). Por otro lado, *Momordica balsamina* Linn reduce la inflamación inducida con ácido acético y albúmina de huevo al administrarse en ratas Wistar el extracto acuoso de las hojas (400 mg/kg) por vía intraperitoneal,

presentando una efectividad de 71.3% (Karumi *et al.*, 2003). El extracto metanólico de *Tabernaemontana divaricata* tiene actividad antiinflamatoria al disminuir el edema inducido con aceite de crotón en ratones machos albinos Swiss, inhibiendo la inflamación en un 91% (2,000 µg/cm) al administrarse por vía tópica (Jain *et al.*, 2013). En un modelo de edema inducido en pata con carragenina, el EtOH de las hojas de *Zehneria scabra* demostró capacidad antiinflamatoria, siendo la fracción acuosa efectiva en un 76.25% (400 mg/kg) al administrarse por vía oral (Belay & Makonnen, 2020). En otro estudio, el EA de *Trichosanthes cumerina* Linn. presentó un efecto similar a la indometacina, reduciendo en un 73% (750 mg/kg) el edema inducido con carragenina en ratas Wistar (Arawwawala *et al.*, 2010).

Al contrastar las investigaciones anteriores de otras plantas con el presente trabajo es posible decir que la actividad antiinflamatoria del EMR de *I. sonorae* es buena debido a que la mayor concentración llegó a reducir arriba del 60% el edema inducido por TPA. Los resultados obtenidos en el presente estudio pueden ser atribuidos a la presencia de compuestos bioactivos en el EMR capaces de modular la respuesta inmune al ser aplicados de manera tópica e inducir un efecto agonista parcial debido a la interacción con receptores o complejos macromoleculares capaces de desencadenar o inhibir una respuesta celular o sistémica con una efectividad parcial en comparación a un fármaco agonista (Brunton *et al.*, 2018). Las cucurbitacinas son compuestos que se encuentran distribuidos en plantas pertenecientes a la familia de las Cucurbitaceae y son conocidas por su amplio espectro de actividades biológicas. Estructuralmente poseen un esqueleto tetracíclico de 30 átomos de carbono, la diversidad de estos compuestos se debe a los diferentes sustituyentes de oxígeno en distintas ubicaciones de la estructura (Figura 10) (Jing *et al.*, 2020). Son capaces de modular varias vías de señalización como las JNK, ERK 1/2, NF-κB y STAT3 (Torres-Moreno *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2014). Se ha reportado anteriormente la presencia de este tipo de metabolitos en *I. sonorae*; kinoína D es una proveniente del EMR inhibe la inflamación en el modelo murino de edema auricular inducido por TPA en un 41% (Ángel Jardón-Delgado, 2014). Adicionalmente, kinoína A (KA) y cucurbitacina IIb (CIIb) derivados del EMR de *I. sonorae* inhiben la producción de ON (64.3 y 47.8%, respectivamente) y TNF-α *in vitro* (solo KA: 66.4%) (Estrada-García, 2019).

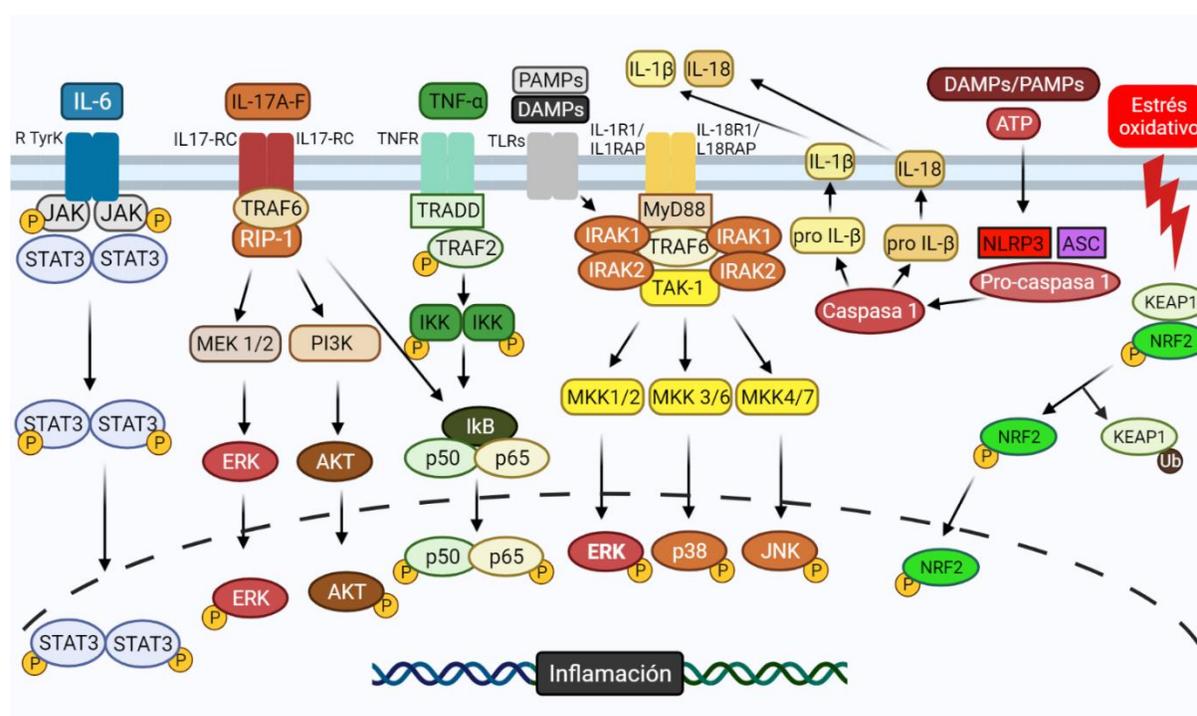


**Figura 10.** Estructura molecular del esqueleto tetracíclico cucurbitano, 9 $\beta$ -metil-19-norlanosta-5-eno.

Se desconocen la totalidad de metabolitos secundarios y los mecanismos celulares que otorgan al EMR de *I. sonorae* una actividad antiinflamatoria. Sin embargo, en base a estudios previos es probable que los compuestos tipo cucurbitacina que forman parte del EMR induzcan este efecto al modular la actividad de las vías de señalización (Torres-Moreno *et al.*, 2019). Anteriormente se ha demostrado que CIIb suprime la fosforilación de JNK y ERK 1/2 en linfocitos activados con concavalina A (Con A), reduciendo los niveles de TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-6 (Wang *et al.*, 2014). Otros estudios han reportado compuestos activos que no han sido reportados en *I. sonorae*, pero son estructuralmente similares. Cucurbitacina E (CuE) es capaz de inhibir la proliferación de macrófagos RAW 264.7 activados con LPS (lipopolisacárido bacteriano), adicionalmente inhibe la producción de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  al suprimir el complejo NF- $\kappa$ B (factor nuclear kappa B), que interactúa en la producción de citocinas proinflamatorias (Qiao *et al.*, 2013). Cucurbitacina B (CuB) es un triterpeno capaz de suprimir la actividad de macrófagos peritoneales activados con LPS, disminuyendo los niveles de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, PGE<sub>2</sub> y NO. El efecto antiinflamatorio de CuB se debe a su capacidad para modular la actividad del factor de transcripción Nrf2, que está involucrado en la regulación de citocinas (Kim *et al.*, 2015). Otro triterpeno con potencial biológico es cucurbitacina Q (CuQ), capaz de inhibir en la línea celular A549 la vía STAT

(transductores de señal y activadores de transcripción) de manera selectiva, que transduce señales extracelulares de citocinas, factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDFG) y factor de crecimiento epidermal (EGF) (Sun et al., 2005). Adicionalmente, la 23,24-dihidrocurbitacina D (DHCD) posee un efecto inhibitorio en la generación de ON en macrófagos peritoneales activados con LPS e IFN- $\gamma$ , esto debido a su capacidad para bloquear la activación de NF- $\kappa$ B, un proceso necesario para la activación de iNOS (óxido nítrico sintetasa) (Park et al., 2004).

Considerando la presencia de compuestos bioactivos como cucurbitacinas en el EMR de *I. sonorensis*, es posible que la expresión de citocinas se vea afectada por dichos metabolitos capaces de bloquear una o más vías de señalización celular involucradas en procesos inflamatorios como MAPK, NF- $\kappa$ B, JAK/STAT (Figura 11).



**Figura 11.** Vías de señalización intracelular que activan el proceso inflamatorio. El diagrama está simplificado debido a las múltiples conexiones entre las distintas vías, reflejando la complejidad de la respuesta inflamatoria (Rayego-Mateos et al., 2020).

### V.3. Conteo diferencial de células sanguíneas

Con la finalidad de respaldar los resultados generados en la prueba del edema inducido con TPA, se analizaron los niveles de leucocitos presentes en sangre periférica durante el transcurso de 4 horas mediante un conteo diferencial. La expresión de monocitos del grupo biopsia (sin tratamiento) se mantuvo prácticamente igual en todas las horas evaluadas, manteniendo un nivel menor a 4%. El grupo tratado únicamente con TPA y el vehículo mostró el mayor número de monocitos entre los grupos, presentando menos del 3% en la h 0, en la 1 h se observó un aumento celular con del 6%, la segunda hora presentó el mayor número de monocitos (8%), la 3 h y 4 h el porcentaje descendió aproximadamente el 6% para ambos casos. La indometacina a 1 mg/oreja (grupo control) mantuvo en la hora 0 y 1 h un conteo de alrededor de 4% de monocitos, en la 2 h y 3 h se encontró aproximadamente el 3% de monocitos y la 4 h descendió más del 2%. El grupo con el tratamiento de EMR de *I. sonoreae* (10 mg/oreja) en la h 0 se observó alrededor del 5% de monocitos y disminuyó a valores próximos al 3% durante la 1 h, 2 h y 3 h; en la 4 h el porcentaje fue de 4% aproximadamente (Figura 12).

El porcentaje de neutrófilos fue distinto para cada grupo, a excepción del grupo sin tratamiento en donde los valores se mantuvieron por debajo del 25% en todos los tiempos evaluados. El grupo tratado con TPA inició en la h 0 con neutrófilos por debajo del 25%, a la 1 h se observó un aumento celular de aproximadamente 40%, la 2 h descendió al 35%, sin embargo, la tendencia siguió en aumento durante la 3 h y 4 h donde se mantuvo en niveles aproximados al 42%. El grupo tratado con indometacina (1 mg/oreja) inició con niveles cercanos al 20% a la h 0 y se mantuvo alrededor del 25% en la 1 h, 2 h y 3 h; durante la 4 h tuvo su pico máximo fue alrededor del 30%. El grupo tratado con EMR de *I. sonoreae* (10 mg/oreja) en la h 0 se observaron neutrófilos por debajo del 25%, el número aumentó en la primera hora hasta un 34%, la tendencia aumentó en la segunda y tercera hora hasta llegar aproximadamente a 38%, la cuarta hora se caracterizó descender al 34% (Figura 11).

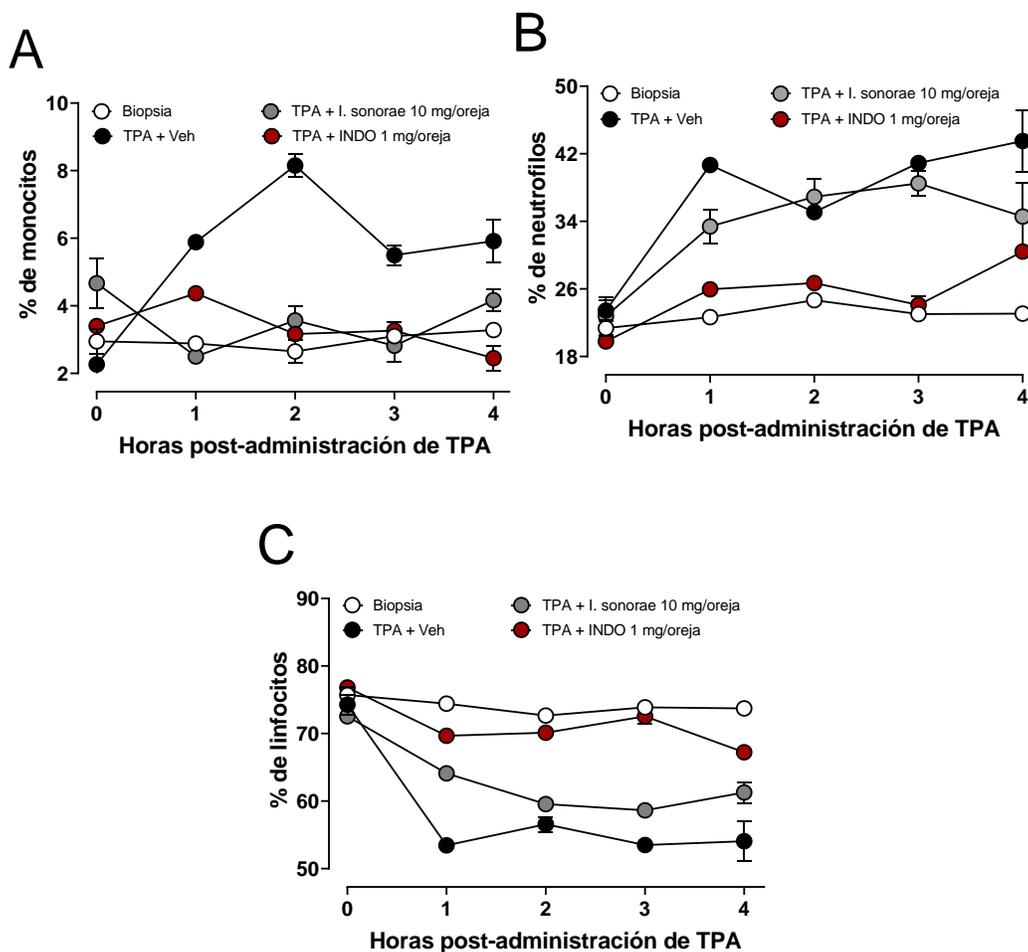
Los niveles de linfocitos en el grupo sin tratamiento se mantuvieron de forma estable en todas las horas evaluadas con valores cercanos al 75%. El grupo tratado con TPA en la h 0 el porcentaje de linfocitos se encuentra cerca del 75%, a la 1 h se observó un descenso celular del 55% durante el tiempo restante. El grupo tratado con indometacina (1 mg/oreja)

en la h 0 fue próximo a 77% y el porcentaje celular descendió a 70% aproximadamente en la 1 h y 2 h, durante la 3 h aumentó ligeramente a 72%, la 4 h presentó un descenso a niveles próximos a 67%. El tratamiento de EMR de *I. sonorae* (10 mg/oreja) durante la h 0 se observó alrededor del 72% de linfocitos y disminuyó aproximadamente a 65% durante la 1 h, en la 1 h, 2 h y 3 h el porcentaje fue de 60% aproximadamente (Figura 12).

Para comprender los resultados del conteo diferencial es necesario conocer los parámetros hematológicos de ratones debido a que existen diferencias con los parámetros en humanos. Las variaciones van desde el tamaño, morfología y volumen celular. En la sangre periférica de la mayoría de las cepas de ratones saludable predominan los linfocitos, los cuales pueden estar presente en un 70 – 80% en conteos diferenciales. Los neutrófilos comprenden el 20 – 30% y son los granulocitos más comunes, su incremento se asocia a respuestas al estrés, infecciones, inflamaciones agudas y enfermedades inflamatorias. La presencia de monocitos en condiciones normales es aproximadamente del 2%, son la principal fuente de citocinas en sangre incluyendo TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6; la monocitosis es asociada con infecciones bacterianas, inflamación crónica y neoplasia (O'Connell *et al.*, 2015).

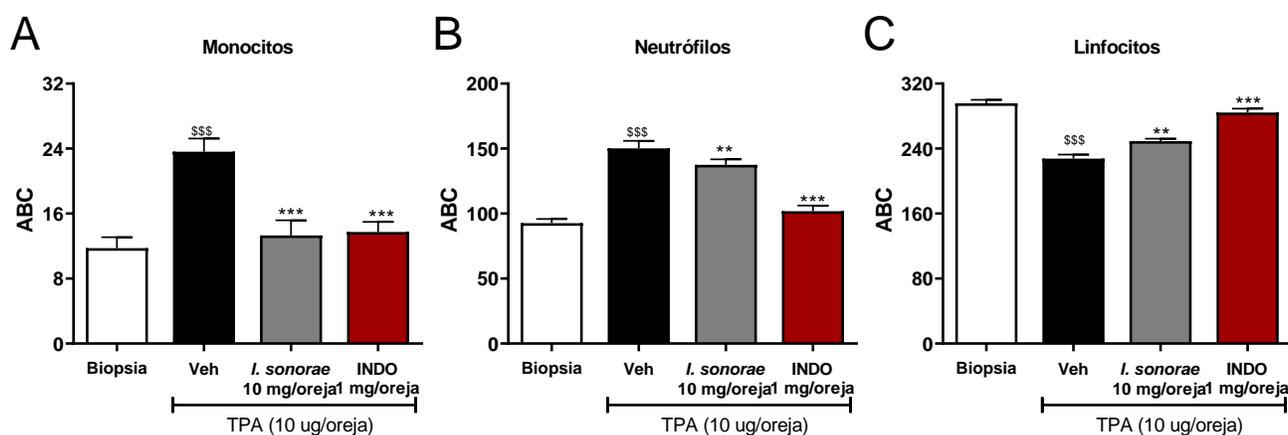
Al comparar los niveles celulares entre los grupos tratados con EMR, indometacina y sin tratamiento, se observa que el grupo con indometacina presenta un perfil similar al grupo que no recibió tratamiento, evidenciando la efectividad del fármaco para reducir los procesos inflamatorios al inhibir la producción de prostaglandinas, además de inhibir mediadores inflamatorios y la expresión de moléculas de adhesión celular e impiden la motilidad celular (Prempeh *et. al.*, 2008; Lucas, 2016). En el grupo tratado con EMR aumentó el número de neutrófilos y disminuyó el % de linfocitos en comparación a la h 0, esto sugiere una lenta absorción del EMR y por lo tanto el inicio del proceso inflamatorio caracterizado por la migración de neutrófilos y monocitos al tejido afectado (Rosales, 2018). El aumento de granulocitos contrasta con los resultados macroscópicos en dónde el grosor y peso de las biopsias demuestran un potente efecto antiinflamatorio. Lo anterior sugiere que el mecanismo de acción que se lleva a cabo por los componentes del extracto no suprime en su totalidad el proceso de inflamación. Sin embargo, el efecto de los compuestos puede estar impactando los macrófagos, así como monocitos periféricos, se ha demostrado anteriormente la capacidad del EMR de la raíz de *I. sonorae* para suprimir la producción de ON y TNF-  $\alpha$

en macrófagos murinos, así mismo se ha observado que los compuestos CIIB y KA provenientes del EMR son capaces de inhibir los niveles de ON y TNF- $\alpha$  en la misma línea celular (Estrada-García, 2019; Torres-Moreno et al., 2019). Esto sugiere una inhibición de citocinas y/o otros mediadores inflamatorios producido por macrófagos que puede alterar las funciones de neutrófilos como fagocitosis, liberación de gránulos y mediador inflamatorio (Rosales, 2018).



**Figura 12.** Efecto del tratamiento local con el extracto de *I. sonorae* en el porcentaje de células inmunes presentes en sangre periférica durante un proceso inflamatorio inducido por TPA. Cada punto representa el promedio de  $n = 6 \pm \text{SEM}$ .

El conteo de monocitos, neutrófilos y linfocitos en los frotis mostró que al representar los datos como área bajo la curva (ABC), la aplicación de TPA cambia de manera estadísticamente significativa el % de los tres tipos celulares en comparación con el grupo que no recibió ningún tratamiento, en el que se observó un importante aumento de monocitos y neutrófilos, así como una disminución de linfocitos (Figura 13). En relación con el grupo tratado con TPA, el grupo con indometacina disminuyó significativamente el número de linfocitos y neutrófilos, en el caso de los linfocitos existe un aumento estadísticamente significativo. El EMR de *I. sonoreae* (10/oreja) inhibió el % de monocitos de manera similar a indometacina, sin embargo, la disminución de neutrófilos fue menor; en cambio los linfocitos aumentan ligeramente en contraste al grupo con TPA, los tres tipos de células presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control.



**Figura 13.** Efecto del tratamiento con EMR de *I. sonoreae* en el porcentaje de células inmunes en sangre periférica de ratones con edema auricular inducido por TPA. Los datos se expresan como el área bajo la curva calculada a partir de los cursos temporales de la gráfica anterior (Figura 11). Cada barra representa el promedio de  $N=6 \pm SEM$ . \$\$\$\$  $P < 0.0001$  con respecto al grupo que no recibió tratamiento (biopsia), \*\*  $P < 0.001$ ; \*\*\*  $P < 0.0001$  con respecto al grupo tratado con TPA, por anova de una vía seguido de una prueba de Tuckey.

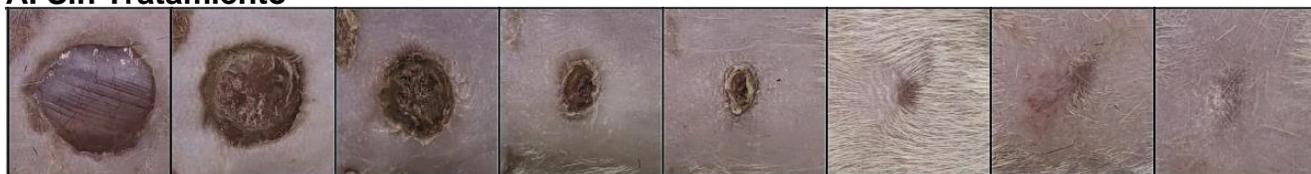
#### **V.4. Cinética de cicatrización del extracto metanólico de la raíz de *Ibervillea sonora***

Para determinar el potencial del efecto cicatrizante de EMR de *I. sonora* se llevó a cabo una cinética de cicatrización. Esta evaluación consistió en un registro fotográfico durante diferentes tiempos por un periodo de 18 días (Figura 14). Los ratones sin tratamiento fueron considerados como control basal, siendo el grupo en el que disminuyó el área de la herida con mayor eficacia. El grupo tratado solamente con solución salina fisiológica al 0.9% (SSF) fue el segundo mejor reduciendo la herida, la SSF se utilizó como vehículo para los grupos tratados con EMR de *I. sonora*. Se evaluaron las concentraciones de 2, 5 y 10 mg/herida de EMR de *I. sonora*, siendo la concentración de 5 mg/herida la de mejor actividad, sin embargo, el cierre de la herida del EMR fue inferior al de los grupos sin tratamiento y con SSF. Los tratamientos con las concentraciones 2 y 10 mg/herida del EMR presentaron los efectos más deficientes para disminuir el área de la herida. Cabe mencionar que en el día 12 post lesión en la mayoría de los grupos experimentales se logró reducir en su totalidad el área de la herida. Durante el análisis de los diferentes tratamientos se pudo constatar que el cierre de la herida fue menor en los grupos con 2 y 5 mg/herida de EMR de *I. sonora*. Los grupos con SSF al 0.9% y sin tratamiento redujeron con mayor efectividad el área de la herida, siendo este último el único grupo con más del 50% del cierre de la herida en el día 3 post lesión (Figura 13). Una cicatrización normal consiste en el adecuado desarrollo de procesos como la hemostasis, inflamación, proliferación celular, remodelación de tejidos y finaliza con la formación de una cicatriz. Las plantas medicinales son utilizadas para promover la reparación de tejidos (Manzoureh *et al.*, 2021).

Sin embargo, los resultados de este experimento indican que el EMR de *I. sonora* no posee tal actividad cicatrizante al contrastarse con los grupos sin tratamiento o con el que se le administró únicamente SSF al 0.9%. Lo anterior puede atribuirse a la presencia de metabolitos secundarios en la raíz que inducen la apoptosis celular de manera desmedida. (Torres-Moreno *et al.*, 2015). La apoptosis es una red compleja de vías bioquímicas con mecanismos reguladores que controlan la muerte en una célula y tiene un papel fundamental en la reparación de tejidos en los procesos inflamatorios y promueven el progreso de la remodelación tisular y la formación de una cicatriz (Rai *et al.*, 2005). El EMR de *I. sonora* al ser aplicado de manera tópica en la herida expuesta parece inducir la apoptosis de manera

desregulada, retrasando la reparación del tejido. La apoptosis desregulada es una anomalía que se presenta en enfermedades como la diabetes mellitus, en donde el aumento de estrés oxidativo induce la apoptosis de linfocitos, lo que conlleva al aumento de la expresión de proteínas proapoptóticas como las caspasas, y disminuye la expresión de proteínas antiapoptóticas como genes del linfoma de células B 2 (*Bcl-2*). Teniendo esto en consideración, los ratones utilizados en este experimento son sanos, lo que significa que la capacidad del organismo para reparar tejidos es bastante efectiva y la aplicación de los tratamientos retrasan el desarrollo normal de las fases. Todos los grupos lograron cicatrizar en su totalidad la herida en el día 15 post lesión, lo que sugiere que la cicatrización finalizó en todos los grupos en los tiempos esperados (Figura 15). El potencial cicatrizante de *I. sonorae* no debe ser descartado, se sugiere en un futuro evaluar distintos componentes que acompañan a la cicatrización como la fuerza tensil del tejido cicatrizado, identificar nuevos vasos sanguíneos mediante tinción de hematoxilina y eosina y realizar un análisis histopatológico.

### A. Sin Tratamiento



Día 0      Día 1      Día 3      Día 6      Día 9      Día 12      Día 15      Día 18

### B. Solución Salina Fisiológica 0.9%



Día 0      Día 1      Día 3      Día 6      Día 9      Día 12      Día 15      Día 18

### C. Extracto metanólico de la raíz de *I. sonorae* (2 mg/herida)



Día 0      Día 1      Día 3      Día 6      Día 9      Día 12      Día 15      Día 18

### D. Extracto metanólico de la raíz de *I. sonorae* (5 mg/herida)



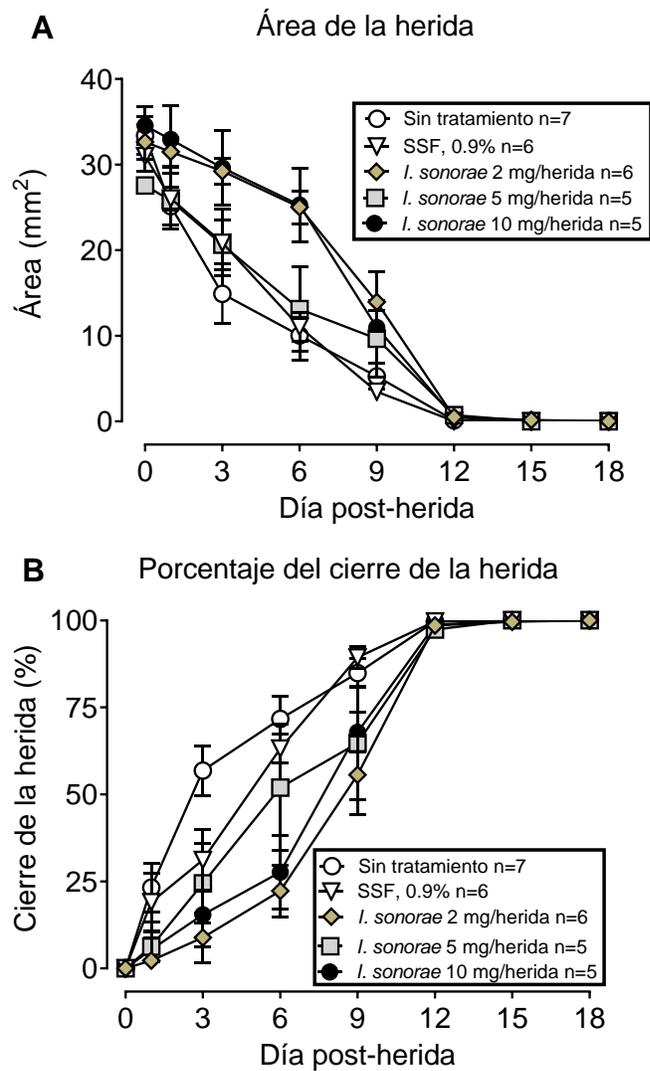
Día 0      Día 1      Día 3      Día 6      Día 9      Día 12      Día 15      Día 18

### E. Extracto metanólico de la raíz de *I. sonorae* (10 mg/herida)



Día 0      Día 1      Día 3      Día 6      Día 9      Día 12      Día 15      Día 18

**Figura 14.** Fotografías de la cinética de la lesión sometida a diferentes tratamientos en un periodo de 18 días. A) Cinética de grupo sin tratamiento, B) cinética de grupo tratado con solución salina fisiológica 0.9%, C) cinética del EMR de *I. sonorae* 2 mg/herida, D) cinética del EMR de *I. sonorae* 2 mg/herida



**Figura 15.** Efecto cicatrizante del EMR de *I. sonoreae*. Cinética de cicatrización de los grupos con diferentes tratamientos. A) Cinética del área de la herida. B) Cinética del porcentaje del cierre del área de la herida. Cada punto representa el promedio  $\pm$  SEM. \* $p < 0.05$ , ANOVA de una vía; post hoc de Bonferroni con respecto al vehículo de los tratamientos.

## V.6. Toxicidad oral aguda del extracto metanólico de la raíz de *Ibervillea sonora*

Para determinar la toxicidad del EMR de *I. sonora* se realizó la prueba de toxicidad oral aguda, establecido por la OECD. En la prueba límite se administró la dosis máxima (5,000 mg/kg) definida para los extractos de plantas. El primer ratón al que se le administró la dosis de 5,000 mg/kg murió en un tiempo menor de 48 h, procediendo a la prueba principal.

Los resultados de la prueba principal muestran que el EMR de *I. sonora* tiene una DL<sub>50</sub>: 1750 mg/kg. Dicha concentración posiciona al extracto dentro de la clasificación de la OECD como “nocivo” al administrarse por vía oral. Por otro lado, la administración del extracto no tiene efecto en la ganancia o pérdida de peso. Los efectos adversos no letales que fueron observados en las primeras 2 h fueron piloerección, diarrea e inmovilización de las extremidades posteriores en la dosis más alta administrada (5,000 mg/kg) (Tabla 3).

**Tabla 3.** Toxicidad oral aguda de EMR de *Ibervillea sonora*.

Prueba límite DL <sub>50</sub>	Prueba principal DL <sub>50</sub>	Clasificación OECD
< 5,000 mg/kg	1750 mg/kg	Nocivo (200 – 2,000 mg/kg)

El presente estudio coincide con los reportes citotóxicos de la raíz de *I. sonora*. En un estudio previo se evaluó el efecto hipoglucemiante de la raíz de *I. sonora*, sugiriendo un posible efecto tóxico debido a que los ratones murieron al administrarse distintas concentraciones (p.o., > 2000 mg/kg ; i.p., > 850 mg/kg) (Alarcon-Aguilar *et al.*, 2002).

Las plantas son una fuente común para la obtención de xenobióticos de estructuras químicas diversas, algunas consideradas toxinas. Los fármacos son xenobióticos, por lo tanto, su consumo implica que existe una capacidad para metabolizar y eliminar el fármaco por medio de vías enzimáticas y sistemas de transporte que se desempeñan en el metabolismo normal de la dieta. En general, la mayoría de los xenobióticos son lipofílicos y el metabolismo puede tener dificultades para eliminarlos, acumulándose en el organismo, induciendo un potencial tóxico. Ingerir concentraciones más altas que las dosis terapéuticas pueden prolongar la absorción, alterando la capacidad para unirse a proteínas y su

distribución, modificando el destino metabólico. Un fármaco generalmente produce múltiples efectos, pero usualmente se desea uno en específico, el resto no son deseados en las indicaciones terapéuticas. Los efectos secundarios pueden ser amplios, de molestos a tóxicos. La incidencia y gravedad de la toxicidad tiende a estar relacionada con la concentración del extracto. La presencia de uno o más compuestos del EMR de *I. sonorae* pueden estar interaccionando simultáneamente generando un efecto sinérgico excesivo, potenciando la toxicidad (Brunton *et al.*, 2018).

La nocividad del EMR de *I. sonorae* no debe opacar su potencial biológico. Debe considerarse la vía de administración tiene un papel fundamental en la velocidad que es absorbido el extracto, lo cual repercute en la efectividad de la planta. Los estudios preclínicos realizados en este trabajo han demostrado que la  $DE_{50}$  del EMR de *I. sonorae* es de 4.76 mg/kg y la prueba de toxicidad resultó en una  $DL_{50}$  de 1750 mg/kg. La proporción  $DE_{50}/DL_{50}$  es un indicador terapéutico que refleja lo selectivo que es el EMR en producir los efectos deseados contra los efectos adversos. Además, la proporción  $DE_{50}/DL_{50}$  tener una noción de la ventana terapéutica de *I. sonorae*, indicando el rango de concentraciones del EMR que proporciona eficacia terapéutica con una toxicidad mínima. En farmacología, la concentración o dosis requerida de un fármaco para producir un efecto terapéutico es preferible a la concentración que manifiesta toxicidad en alguna parte de la población (Brunton *et al.*, 2018). Teniendo en cuenta lo anterior, la actividad antiinflamatoria del EMR de *I. sonorae* aplicado tópicamente es considerado como bueno debido a su amplia ventana terapéutica, lo que representa un riesgo bastante bajo.

El presente estudio ha generado evidencia que respalda a *I. sonorae* como una fuente valiosa para la obtención de compuestos con fines terapéuticos para el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

## VI. CONCLUSIONES

- Se demostró que el extracto metanólico de la raíz de *Ibervillea sonora* reduce la inflamación al administrarse tópicamente en un modelo de edema auricular inducido por TPA.
- Se demostró que el extracto metanólico de la raíz de *Ibervillea sonora* no tiene efecto sobre los mecanismos de cicatrización al ser aplicado tópicamente en una herida.
- Se estableció la dosis letal del extracto metanólico de la raíz de *Ibervillea sonora*, siendo clasificado como nocivo en la categoría de la OECD.

## VII. RECOMENDACIONES

- Evaluar el EMR en modelos inflamatorios de carácter sistémico y/o crónico, así como en otras especies, lo anterior con el fin de garantizar su eficacia y seguridad.
- Evaluar el efecto cicatrizante del EMR en otro modelo que permita analizar la calidad del tejido.
- Evaluar el efecto inhibitorio del EMR sobre enzimas de relevancia clínica.
- Caracterizar y aislar la fracción y/o moléculas que otorgan al EMR su potencial biológico.

## VIII. LITERATURA CITADA

- Al-Ishaq, R. K., Abotaleb, M., Kubatka, P., Kajo, K., & Büsselberg, D. (2019). Flavonoids and their anti-diabetic effects: Cellular mechanisms and effects to improve blood sugar levels. *Biomolecules*, 9(9). <https://doi.org/10.3390/biom9090430>
- Alarcon-Aguilar, F. J., Calzada-Bermejo, F., Hernandez-Galicia, E., Ruiz-Angeles, C., & Roman-Ramos, R. (2005). Acute and chronic hypoglycemic effect of *Ibervillea sonorae* root extracts-II. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(3), 447–452. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2004.11.035>
- Alarcon-Aguilar, F. J., Campos-Sepulveda, A. E., Xolalpa-Molina, S., Hernandez-Galicia, E., & Roman-Ramos, R. (2002). Hypoglycaemic activity of *Ibervillea sonorae* roots in healthy and diabetic mice and rats. *Pharmaceutical Biology*, 40(8), 570–575. <https://doi.org/10.1076/phbi.40.8.570.14652>
- Alonso-Castro, A. J., Zapata-Morales, J. R., Ruiz-Padilla, A. J., Solorio-Alvarado, C. R., Rangel-Velázquez, J. E., Cruz-Jiménez, G., Orozco-Castellanos, L. M., Domínguez, F., Maldonado-Miranda, J. J., Carranza-Álvarez, C., Castillo-Pérez, L. J., Solano, E., Isiordia-Espinoza, M. A., del Carmen Juárez-Vázquez, M., Argueta-Fuertes, M. A., González-Sánchez, I., & Ortiz-Andrade, R. (2017). Use of medicinal plants by health professionals in Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*, 198, 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.12.038>
- Anderson, J. M. (2013). Inflammation, Wound Healing, and the Foreign-Body Response. *Biomaterials Science: An Introduction to Materials: Third Edition*, 503–512. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-087780-8.00044-9>
- Ángel Jardón-Delgado. (2014). *Estudio sobre el uso, química y actividad farmacológica de Ibervillea sonorae (Watson) Greene "Guareque* [Universidad Nacional Autónoma de México]. [http://rdu.iquimica.unam.mx/bitstream/20.500.12214/590/1/Jardon\\_Delgado\\_tesisD\\_2014.pdf](http://rdu.iquimica.unam.mx/bitstream/20.500.12214/590/1/Jardon_Delgado_tesisD_2014.pdf)
- Ansar, M., & Azeddine Ibrahim Abdulmalik Abdullah Abudunia Rabie Kamal, N. M. Z. M. A. K. K. A. (2017). In Vivo Potential Anti-Inflammatory Activity of Extracts from *Calendula arvensis* (CA) Flowers. In A. G. A. Al-kaf (Ed.), *Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.68914>
- Arawwawala, M., Thabrew, I., Arambewela, L., & Handunnetti, S. (2010). Anti-inflammatory activity of *Trichosanthes cucumerina* Linn. in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 131(3), 538–543. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2010.07.028>
- Arciniega-Carreón, I. Y., Ramírez-Sotelo, M. G., Ramos-Valdivia, A. C., Salas, C. E., Ortega, A., & Oliver-Salvador, C. (2020). Metabolites in cultured cells of *Ibervillea sonorae* (S. Watson) Greene display increased hypoglycemic activity compared to that seen in plant roots. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 61(6), 1039–1049. <https://doi.org/10.1007/s13580-020-00281-3>
- Arredondo-Gómez, Z. (2005). *EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE FORMULACIONES SÓLIDAS Y LÍQUIDAS DE WEREKE (Ibervillea sonorae), DE TRES SITIOS DEL SUR*

DE SONORA. Instituto Tecnológico de Sonora.

- Ascari, J., de Oliveira, M., Nunes, D., Granato, D., DR, S., E, S., M, O., B, S., & G, H. (2019). Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of the essential oils from male and female specimens of *Baccharis punctulata* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 234, 1–7. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2019.01.005>
- Belay, R., & Makonnen, E. (2020). Anti-inflammatory activities of ethanol leaves extract and solvent fractions of *Zehneria scabra* (Cucurbitaceae) in rodents. *Asian Journal of Natural Product Biochemistry*, 18(1). <https://doi.org/10.13057/BIOFAR/F180105>
- Bennett, J. M., Reeves, G., Billman, G. E., & Sturmberg, J. P. (2018). Inflammation–Nature’s Way to Efficiently Respond to All Types of Challenges: Implications for Understanding and Managing “the Epidemic” of Chronic Diseases. *Frontiers in Medicine*, 5, 316. <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00316>
- Brunton, L. L., Hilal-Dandan, R., & Knollmann, B. C. (2018). *Goodman & Gilman’s: The Pharmacological Basis of Therapeutics* (13th ed.). McGraw Hill Medical. <https://accessmedicine.mhmedical.com/book.aspx?bookID=2189>
- Cañedo-Dorantes, L., & Cañedo-Ayala, M. (2019). Skin acute wound healing: A comprehensive review. In *International Journal of Inflammation* (Vol. 2019). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2019/3706315>
- Ceilley, G. H. R. (2017). Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. *Advances in Therapy*, 34, 599–610. <https://doi.org/10.1007/s12325-017-0478-y>
- Chapin, J. C., & Hajjar, K. A. (2015). Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood Reviews*, 29(1), 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2014.09.003>
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., & Zhao, L. (2018). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6). <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208>
- de Oliveira Gonzalez, A. C., Costa, T. F., de Araújo Andrade, Z., Medrado, A. R. A. P., de Oliveira Gonzalez, A. C., Costa, T. F., de Araújo Andrade, Z., & Medrado, A. R. A. P. (2016). Wound healing - A literature review. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 91(5), 614–620. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20164741>
- Derry, S., Conaghan, P., Da Silva, J. A. P., Wiffen, P. J., & Moore, R. A. (2016). Topical NSAIDs for chronic musculoskeletal pain in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2016(4). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007400.PUB3>
- DiPietro, L. A. (2016). Angiogenesis and wound repair: when enough is enough. *Journal of Leukocyte Biology*, 100(5), 979–984. <https://doi.org/10.1189/jlb.4mr0316-102r>
- Ellis, S., Lin, E. J., & Tartar, D. (2018). Immunology of Wound Healing. *Current Dermatology Reports*, 7(4), 350–358. <https://doi.org/10.1007/s13671-018-0234-9>
- Eming, S A, Martin, P., & Tomic-Canic, M. (2014). Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation. *Science Translational Medicine*, 6(265), 265sr6-265sr6. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3009337>
- Eming, Sabine A. (2019). Introduction to Wound Healing and Tissue Repair. In *Atlas of*

- Ulcers in Systemic Sclerosis* (pp. 39–41). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-98477-3\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-319-98477-3_5)
- Estrada-García, J. G. (2019). *Evaluación del efecto de kinoína A y cucurbitacina Iib sobre ON y FNT-α en células RAW 264.7*. Universidad de Sonora.
- Estrada-Zúñiga, M. E., Arano-Varela, H., Buendía-González, L., & Orozco-Villafuer, J. (2012). Fatty acids, phenols content, and antioxidant activity in *Ibervillea sonorae* callus cultures. *Revista Mexicana de Ingeniera Química*, *11*(1), 89–96. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1665-27382012000100007](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382012000100007)
- Frykberg, R. G., & Banks, J. (2015). Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. *Advances in Wound Care*, *4*(9), 560–582. <https://doi.org/10.1089/wound.2015.0635>
- Furie, B., & Furie, B. C. (2008). Mechanisms of Thrombus Formation. *New England Journal of Medicine*, *359*(9), 938–949. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0801082>
- Gallo, J., Raska, M., Kriegova, E., & Goodman, S. B. (2017). Inflammation and its resolution and the musculoskeletal system. *Journal of Orthopaedic Translation*, *10*, 52–67. <https://doi.org/10.1016/j.jot.2017.05.007>
- García-Aranda, M. I., Ramírez Sotelo, M. G., & Piña Guzmán, A. B. (2013). *Identificación química y farmacológica de compuestos activos de Ibervillea sonorae como hipoglucemiante* [Instituto Politécnico Nacional]. <http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/19661>
- Golebiewska, E. M., & Poole, A. W. (2015). Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Reviews*, *29*(3), 153–162. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2014.10.003>
- Greer, J. P., Arber, D. A., Glader, B. E., List, A. F., Means, R. T., Rodgers, G. M., Appelbaum, F. R., Dispenzieri, A., & Fehniger, T. A. (2018). Wintrobe's clinical hematology: Fourteenth edition. In *Wintrobe's Clinical Hematology: Fourteenth Edition*. Wolters Kluwer Health Pharma Solutions (Europe) Ltd.
- Hagen, M., & Baker, M. (2017). Skin penetration and tissue permeation after topical administration of diclofenac. <https://doi.org/10.1080/03007995.2017.1352497>, *33*(9), 1623–1634. <https://doi.org/10.1080/03007995.2017.1352497>
- Harper, D., Young, A., & McNaught, C. E. (2014). The physiology of wound healing. In *Surgery (United Kingdom)* (Vol. 32, Issue 9, pp. 445–450). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2014.06.010>
- Hussain, H., Green, I., Saleem, M., Khattak, K. F., Irshad, M., & Ali, M. (2018). Cucurbitacins as Anticancer Agents: A Patent Review. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*, *13*. <https://doi.org/10.2174/1574892813666181119123035>
- Jain, S., Sharma, P., Ghule, S., Jain, A., & Jain, N. (2013). In vivo anti-inflammatory activity of *Tabernaemontana divaricata* leaf extract on male albino mice. *Chinese Journal of Natural Medicines*, *11*(5), 472–476. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(13\)60086-2](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(13)60086-2)
- Janis, J. E., & Harrison, B. (2014). Wound Healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*, *133*(2), 199e-207e. <https://doi.org/10.1097/01.prs.0000437224.02985.f9>

- Jardón-Delgado, A., Magos-Guerrero, G. A., & Martínez-Vázquez, M. (2014). Isolation of a new anti-inflammatory 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27-octanorcucurbitacin-typetriterpene from *Ibervillea sonorae*. *Natural Product Communications*, 9(1), 15–16. <https://doi.org/10.1177/1934578x1400900106>
- Jing, S., Zou, H., Wu, Z., Ren, L., Zhang, T., Zhang, J., & Wei, Z. (2020). Cucurbitacins: Bioactivities and synergistic effect with small-molecule drugs. In *Journal of Functional Foods* (Vol. 72, p. 104042). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104042>
- Johnson, K. E., & Wilgus, T. A. (2014). Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in the Regulation of Cutaneous Wound Repair. *Advances in Wound Care*, 3(10), 647–661. <https://doi.org/10.1089/wound.2013.0517>
- Karukonda, S. R. K., Flynn, T. C., Boh, E. E., McBurney, E. I., Russo, G. G., & Millikan, L. E. (2000). The effects of drugs on wound healing: Part 1. In *International Journal of Dermatology* (Vol. 39, Issue 4, pp. 250–257). Int J Dermatol. <https://doi.org/10.1046/j.1365-4362.2000.00948.x>
- Karumi, Y., . P. O., & . V. O. O. (2003). Anti-inflammatory and Antinociceptive (Analgesic) Properties of Momordical balsamina Linn. (Balsam Apple) Leaves in Rats. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 6(17), 1515–1518. <https://doi.org/10.3923/PJBS.2003.1515.1518>
- Kearns, D. M. (1994). THE GENUS IBERVILLEA (CUCURBITACEAE): AN ENUMERATION OF THE SPECIES AND TWO NEW COMBINATIONS. *Madroño*, 41, 13–22. <https://www.jstor.org/stable/41426234?seq=1>
- Kim, M., SY, P., ML, J., G, P., & HJ, S. (2015). Cucurbitacin B inhibits immunomodulatory function and the inflammatory response in macrophages. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 37(5), 473–480. <https://doi.org/10.3109/08923973.2015.1085065>
- Krzyszczczyk, P., Schloss, R., Palmer, A., & Berthiaume, F. (2018). The role of macrophages in acute and chronic wound healing and interventions to promote pro-wound healing phenotypes. In *Frontiers in Physiology* (Vol. 9, Issue MAY). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00419>
- Kurek, J. (2019). Introductory Chapter: Alkaloids - Their Importance in Nature and for Human Life. In *Alkaloids - Their Importance in Nature and Human Life*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85400>
- Lanau-Roig, A., Fabrellas, N., Sáez-Rubio, G., & Wilson, K. (2017). Time of chronic wound healing, as part of a prevalence and incidence study. *Enfermería Global*, 16(2), 454–463. <https://doi.org/10.6018/eglobal.16.2.251311>
- Landén, N. X., Li, D., & Stähle, M. (2016). Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. In *Cellular and Molecular Life Sciences* (Vol. 73, Issue 20, pp. 3861–3885). Birkhauser Verlag AG. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2268-0>
- Li, P., Zheng, Y., & Chen, X. (2017). Drugs for Autoimmune Inflammatory Diseases: From Small Molecule Compounds to Anti-TNF Biologics. *Frontiers in Pharmacology*, 0(JUL), 460. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2017.00460>

- Lira-Saade, R. (2001). CUCURBITACEAE\*. *FLORA DEL BAJÍO Y DE REGIONES ADYACENTES*.
- Lucas, S. (2016). The Pharmacology of Indomethacin. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 56(2), 436–446. <https://doi.org/10.1111/HEAD.12769>
- Madsen, M., Hansen, P. R., Nielsen, L. B., Hartvigsen, K., Pedersen, A. E., Christensen, J. P., Aarup, A., & Pedersen, T. X. (2016). Effect of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced psoriasis-like skin lesions on systemic inflammation and atherosclerosis in hypercholesterolaemic apolipoprotein E deficient mice. *BMC Dermatology*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12895-016-0046-1>
- Manzoureh, R., & Farahpour, M. R. (2021). Topical administration of hydroethanolic extract of *Trifolium pratense* (red clover) accelerates wound healing by apoptosis and re-epithelialization. *Biotechnic and Histochemistry*, 96(4), 276–286. <https://doi.org/10.1080/10520295.2020.1797875>
- Matos, M. J., Santana, L., Uriarte, E., Abreu, O. A., Molina, E., & Yordi, E. G. (2015). Coumarins — An Important Class of Phytochemicals. In *Phytochemicals - Isolation, Characterisation and Role in Human Health*. InTech. <https://doi.org/10.5772/59982>
- Méndez-Bolaina, E., Vázquez-Hernández, M., Moreno-Quiros, C. V., Maldonado-Saavedra, O., Luna-Orea, D., Herrera-Huerta, E. V., & García-Rodríguez, R. V. (2021). Antioxidant potential, anti-inflammatory activity, antidiabetic and cardioprotective effect of *microsechium helleri* (Peyr.) cong. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, 20(5), 524–535. <https://doi.org/10.37360/BLACPMA.21.20.5.39>
- Mir, M., Ali, M. N., Barakullah, A., Gulzar, A., Arshad, M., Fatima, S., & Asad, M. (2018). Synthetic polymeric biomaterials for wound healing: a review. *Progress in Biomaterials*, 7(1), 1–21. <https://doi.org/10.1007/s40204-018-0083-4>
- Moghimpour, E., & Handali, S. (2015). Saponin: Properties, Methods of Evaluation and Applications. *Annual Research & Review in Biology*, 5(3), 207–220. <https://doi.org/10.9734/arrb/2015/11674>
- Morales, D. M., Siles, S., & Mateos, A. L. (2012). IDENTIFICACIÓN DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES DE LA RAÍZ DE WEREQUE, EXTRAÍBLES EN MEDIO ACUOSO, POR GC-MS IDENTIFICATION OF THE MAIN WEREQUE'S ROOT COMPONENTS, EXTRACTIBLE IN AQUEOUS MEDIUM, BY GC-MS. In *Avances en Ciencias e Ingeniería* (Vol. 4, Issue 2). Executive Business School. [http://www.exeedu.com/publishing.cl/av\\_cienc\\_ing/15](http://www.exeedu.com/publishing.cl/av_cienc_ing/15)
- Murakami, M., & Hirano, T. (2012). The molecular mechanisms of chronic inflammation development. *Frontiers in Immunology*, 0(NOV), 323. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2012.00323>
- Murphy, K., & Weaver, C. (2016). *Janeway's Immunobiology*. CRC Press. <https://books.google.com.mx/books?id=GmPLCwAAQBAJ>
- Nevárez-Ramírez, A. J. (2017). *Evaluación de la actividad anti-tumoral y anti-inflamatoria de Ibervillea sonora* [Nevárez Ramírez, Abraham Josué]. <http://tesis.ipn.mx:8080/xmlui/handle/123456789/22050>

- Newton, A. C. (2010). Protein kinase c. relaying signals from lipid hydrolysis to protein phosphorylation. In *Handbook of Cell Signaling, 2/e* (Vol. 2, pp. 1123–1129). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374145-5.00139-X>
- Nour, S., Baheiraei, N., Imani, R., Khodaei, M., Alizadeh, A., Rabiee, N., & Moazzeni, S. M. (2019). A review of accelerated wound healing approaches: biomaterial- assisted tissue remodeling. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 30*(10). <https://doi.org/10.1007/s10856-019-6319-6>
- Núñez-Gastélum, J. A., Hernández-Rivas, R., Rodrigo-García, J., De la Rosa, L. A., Alvarez-Parrilla, E., Díaz-Sánchez, Á. G., Muñoz-Bernal, O. A., Cota-Ruiz, K., & Martínez-Martínez, A. (2018). CONTENIDO DE POLIFENÓLICOS, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DE LA RAÍZ DE *Ibervillea sonora*. *Biotechnia, 20*(3), 23–27. <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v20i3.702>
- O’Connell, K. E., Mikkola, A. M., Stepanek, A. M., Vernet, A., Hall, C. D., Sun, C. C., Yildirim, E., Staropoli, J. F., Lee, J. T., & Brown, D. E. (2015). Practical Murine Hematopathology: A Comparative Review and Implications for Research. *Comparative Medicine, 65*(2), 96. [/pmc/articles/PMC4408895/](https://doi.org/10.1016/j.comam.2015.02.001)
- Palhares, R. M., Drummond, M. G., Dos Santos Alves Figueiredo Brasil, B., Cosenza, G. P., Das Graças Lins Brandão, M., & Oliveira, G. (2015). Medicinal plants recommended by the world health organization: DNA barcode identification associated with chemical analyses guarantees their quality. *PLoS ONE, 10*(5), e0127866. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127866>
- Park, C., H, L., KJ, H., SH, B., HO, S., DW, L., YG, K., HY, Y., KJ, B., & NS, K. (2004). Inhibition of nitric oxide generation by 23,24-dihydrocucurbitacin D in mouse peritoneal macrophages. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 309*(2), 705–710. <https://doi.org/10.1124/JPET.103.063693>
- Pastar, I., Stojadinovic, O., Yin, N. C., Ramirez, H., Nusbaum, A. G., Sawaya, A., Patel, S. B., Khalid, L., Isseroff, R. R., & Tomic-Canic, M. (2014). Epithelialization in Wound Healing: A Comprehensive Review. *Advances in Wound Care, 3*(7), 445–464. <https://doi.org/10.1089/wound.2013.0473>
- Pereira, R. F., & Bártolo, P. J. (2016). Traditional Therapies for Skin Wound Healing. In *Advances in Wound Care* (Vol. 5, Issue 5, pp. 208–229). Mary Ann Liebert Inc. <https://doi.org/10.1089/wound.2013.0506>
- Powers, J. G., Higham, C., Broussard, K., & Phillips, T. J. (2016). Wound healing and treating wounds Chronic wound care and management. In *Journal of the American Academy of Dermatology* (Vol. 74, Issue 4, pp. 607–625). Mosby Inc. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2015.08.070>
- Prempeh, A., & Mensah-Attipoe, J. (2008). Crude aqueous extract of the root bark of *xanthoxylum xanthoxyloides* inhibits white blood cells migration in acute inflammation. *Ghana Medical Journal, 42*(3). <https://doi.org/10.4314/GMJ.V42I3.43615>
- Qiao, J., Xu, L., He, J., Ouyang, D., & He, X. (2013). Cucurbitacin E exhibits anti-inflammatory effect in RAW 264.7 cells via suppression of NF-κB nuclear translocation. *Inflammation Research, 62*:5, 62(5), 461–469.

<https://doi.org/10.1007/S00011-013-0598-Z>

- Radaszkiewicz, K. A., Beckerová, D., Woloszczuková, L., Radaszkiewicz, T. W., Lesáková, P., Blanářová, O. V., Kubala, L., Humpolíček, P., & Pachernik, J. (2020). 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetate increases cardiomyogenesis through PKC/ERK signaling. *Scientific Reports*, *10*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73074-4>
- Rai, N. K., Tripathi, K., Sharma, D., & Shukla, V. K. (2005). Apoptosis: A basic physiologic process in wound healing. In *International Journal of Lower Extremity Wounds* (Vol. 4, Issue 3, pp. 138–144). Sage Publications/Sage CA: Thousand Oaks, CA. <https://doi.org/10.1177/1534734605280018>
- Ramirez, H., Patel, S. B., & Pastar, I. (2014). The Role of TGF $\beta$  Signaling in Wound Epithelialization. *Advances in Wound Care*, *3*(7), 482–491. <https://doi.org/10.1089/wound.2013.0466>
- Rayego-Mateos, S., Morgado-Pascual, J. L., Opazo-Ríos, L., Guerrero-Hue, M., García-Caballero, C., Vázquez-Carballo, C., Mas, S., Sanz, A. B., Herencia, C., Mezzano, S., Gómez-Guerrero, C., Moreno, J. A., & Egido, J. (2020). Pathogenic pathways and therapeutic approaches targeting inflammation in diabetic nephropathy. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(11). <https://doi.org/10.3390/IJMS21113798>
- Reimers, E. A. L., Fernández C., E., Reimers, D. J. L., Chaloupkova, P., Del Valle, J. M. Z., Milella, L., & Russo, D. (2019). An ethnobotanical survey of medicinal plants used in Papantla, Veracruz, Mexico. *Plants*, *8*(8). <https://doi.org/10.3390/plants8080246>
- Reinke, J. M., & Sorg, H. (2012). Wound repair and regeneration. *European Surgical Research*, *49*(1), 35–43. <https://doi.org/10.1159/000339613>
- Robles-Zepeda, R. E., Velázquez-Contreras, C. A., Garibay-Escobar, A., Gálvez-Ruiz, J. C., & Ruiz-Bustos, E. (2011). Antimicrobial activity of northwestern mexican plants against helicobacter pylori. *Journal of Medicinal Food*, *14*(10), 1280–1283. <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0263>
- Rosales, C. (2018). Neutrophil: A Cell with Many Roles in Inflammation or Several Cell Types? *Frontiers in Physiology*, *9*(FEB), 113. <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2018.00113>
- Rousselle, P., Braye, F., & Dayan, G. (2019). Re-epithelialization of adult skin wounds: Cellular mechanisms and therapeutic strategies. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (Vol. 146, pp. 344–365). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.06.019>
- Ruiz-Bustos, E., Velazquez, C., Garibay-Escobar, A., García, Z., Plascencia-Jatomea, M., Cortez-Rocha, M. O., Hernandez-Martínez, J., & Robles-Zepeda, R. E. (2009). Antibacterial and antifungal activities of some Mexican medicinal plants. *Journal of Medicinal Food*, *12*(6), 1398–1402. <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0205>
- Salehi, B., Capanoglu, E., Adrar, N., Catalkaya, G., Shaheen, S., Jaffer, M., Giri, L., Suyal, R., Jugran, A. K., Calina, D., Docea, A. O., Kamiloglu, S., Kregiel, D., Antolak, H., Pawlikowska, E., Sen, S., Acharya, K., Selamoglu, Z., Sharifi-Rad, J., ... Capasso, R. (2019). Cucurbits plants: A key emphasis to its pharmacological potential. In *Molecules* (Vol. 24, Issue 10). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules24101854>

- Savagner, P., Arnoux, V., Côme, C., Kusewitt, D. F., Hudson, L. G., & Savagner, P. (2005). Cutaneous Wound Reepithelialization. In *Rise and Fall of Epithelial Phenotype* (pp. 111–134). Springer US. [https://doi.org/10.1007/0-387-28671-3\\_8](https://doi.org/10.1007/0-387-28671-3_8)
- Schaefer, H., & Renner, S. S. (2010). Cucurbitaceae. In *Flowering Plants. Eudicots* (pp. 112–174). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-14397-7\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-642-14397-7_10)
- Schultz, G. S., Chin, G. A., Moldawer, L., & Diegelmann, R. F. (2011). Principles of wound healing. In *Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists* (pp. 423–450). University of Adelaide Press. <https://doi.org/10.1017/UPO9781922064004.024>
- Shah, S. S. A., Hussain, M. I., Aslam, M. K., & Rivera, G. (2014). Natural products; pharmacological importance of family Cucurbitaceae: a brief review. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 14(8), 694–705. <https://doi.org/10.2174/1389557514666140820113055>
- Shedoeva, A., Leavesley, D., Upton, Z., & Fan, C. (2019). Wound Healing and the Use of Medicinal Plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 1–30. <https://doi.org/10.1155/2019/2684108>
- Shiffman, M. A. (2018). *Acute Wound Healing: Normal Mechanisms* (pp. 295–299). Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/15695\\_2017\\_99](https://doi.org/10.1007/15695_2017_99)
- Sinagawa-García, S., Gutiérrez-Díez, A., Mora-Olivo, A., Juárez-Aragón, M. C., & Torres-Castillo, J. A. (2015). *Características descriptivas de la raíz de wereke (Ibervillea sonorae Greene) y generalidades bioquímicas de su extracto acuoso Wereke root (Ibervillea sonorae Greene) descriptive characteristics and biochemical generalities of its aqueous extract.* 358–367. <http://www.revistaphyton.fundromuloraggio.org.ar/vol84-2/Sinagawa.pdf>
- Sira, J., & Eyre, L. (2016). Physiology of haemostasis. In *Anaesthesia and Intensive Care Medicine* (Vol. 17, Issue 2, pp. 79–82). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2015.11.004>
- Suárez-Medina, K., & Coy-Barrera, E. (2016). Diversidad de los compuestos orgánicos bioactivos de origen natural: una singularidad manifestada por la plasticidad en el metabolismo secundario. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12(2), 252–269. <https://doi.org/10.18359/rfcb.2031>
- Sun, J., Blaskovich, M. A., Jove, R., Livingston, S. K., Coppola, D., & Sefti, S. M. (2005). Cucurbitacin Q: a selective STAT3 activation inhibitor with potent antitumor activity. *Oncogene* 2005 24:20, 24(20), 3236–3245. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208470>
- Teller, P., & White, T. K. (2011). The physiology of wound healing: Injury through maturation. In *Perioperative Nursing Clinics* (Vol. 6, Issue 2, pp. 159–170). No longer published by Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.cpen.2011.04.001>
- Torres-Moreno, H., López-Romero, J. C., Vázquez-Solorio, J. Y., Velázquez-Contreras, C. A., Garibay-Escobar, A., Díaz-López, R., & Robles-Zepeda, R. E. (2019). Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of *Ibervillea sonorae*. *South African Journal of Botany*, 125, 207–213. <https://doi.org/10.1016/J.SAJB.2019.07.029>

- Torres-Moreno, H., Marcotullio, M. C., Velázquez, C., Ianni, F., Garibay-Escobar, A., & Robles-Zepeda, R. E. (2020). Cucurbitacin Iib, a steroidal triterpene from *Ibervillea sonorae* induces antiproliferative and apoptotic effects on cervical and lung cancer cells. *Steroids*, *157*, 108597. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.steroids.2020.108597>
- Torres-Moreno, H., Velázquez, C. A., Garibay-Escobar, A., Curini, M., Marcotullio, M. C., & Robles-Zepeda, R. E. (2015). Antiproliferative and apoptosis induction of cucurbitacin-type triterpenes from *Ibervillea sonorae*. *Industrial Crops and Products*, *77*, 895–900. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2015.09.055>
- Tottoli, E. M., Dorati, R., Genta, I., Chiesa, E., Pisani, S., & Conti, B. (2020). Skin wound healing process and new emerging technologies for skin wound care and regeneration. In *Pharmaceutics* (Vol. 12, Issue 8, pp. 1–30). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12080735>
- Vidal-Gutiérrez, M., Vilegas, W., & Robles-Zepeda, R. E. (2020). *Avaliação de Fitopreparados de Ibervillea sonorae (S. Watson) Greene em Modelos Tumoriais* [Universidade Estadual Paulista (UNESP)]. <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/202501>
- Visha, M., & Karunagaran, M. (2019). A review on wound healing. *International Journal of Clinicopathological Correlation*, *3*(2), 50. [https://doi.org/10.4103/ijcpc.ijcpc\\_13\\_19](https://doi.org/10.4103/ijcpc.ijcpc_13_19)
- Wang, Y., Zhao, G. X., Xu, L. H., Liu, K. P., Pan, H., He, J., Cai, J. Y., Ouyang, D. Y., & He, X. H. (2014). Cucurbitacin Iib exhibits anti-inflammatory activity through modulating multiple cellular behaviors of mouse lymphocytes. *PLoS ONE*, *9*(2), e89751. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089751>
- Warriner, R., & Burrell, R. (2005). Infection and the chronic wound: a focus on silver. In *Advances in skin & wound care: Vol. 18 Suppl 1* (pp. 2–12). Adv Skin Wound Care. <https://doi.org/10.1097/00129334-200510001-00001>
- WHO. (2013a). Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. *Pharmacological Research*, *112*, 4–29. <https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2016.01.021>
- WHO. (2013b). Medicinal plants recommended by the world health organization: DNA barcode identification associated with chemical analyses guarantees their quality. *PLoS One*, *10*(5), e0127866–e0127866. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127866>
- Wilkinson, H. N., & Hardman, M. J. (2020). Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes: Cellular Mechanisms of Wound Repair. In *Open Biology* (Vol. 10, Issue 9). Royal Society Publishing. <https://doi.org/10.1098/rsob.200223>
- Zaidi, A., & Green, L. (2019). Physiology of haemostasis. In *Anaesthesia and Intensive Care Medicine* (Vol. 20, Issue 3, pp. 152–158). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2019.01.005>
- Zapata-Bustos, R., Alonso-Castro, Á. J., Gómez-Sánchez, M., & Salazar-Olivo, L. A. (2014). *Ibervillea sonorae* (Cucurbitaceae) induces the glucose uptake in human adipocytes by activating a PI3K-independent pathway. *Journal of Ethnopharmacology*, *152*(3), 546–552. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2014.01.041>