

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



Obtención, caracterización fitoquímica de los extractos vegetales de *Illicium verum* y *Brosimum alicastrum* y su evaluación hemolítica.

Por

EDGAR ISRAEL GALINDO CONTRERAS

Como requisito parcial para obtener el Grado de
Maestría en Odontología Avanzada

Septiembre, 2022

Obtención, caracterización fitoquímica de los extractos vegetales de *Illicium verum* y *Brosimum alicastrum* y su evaluación hemolítica.

EDGAR ISRAEL GALINDO CONTRERAS

Comité de Examen

Presidente

Dra. Rosa Isela Sánchez Nájera

Secretario

Dra. Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis

Vocal

Dr. Guillermo Cruz Palma

Obtención, caracterización fitoquímica de los extractos vegetales de *Illicium verum* y *Brosimum alicastrum* y su evaluación hemolítica.

TESISTA

EDGAR ISRAEL GALINDO CONTRERAS

DIRECCIÓN DE TESIS

DIRECTORA

DRA. OSVELIA ESMERALDA RODRÍGUEZ LUIS

CODIRECTORA

DRA. LAURA ELENA VILLARREAL GARCÍA

Obtención, caracterización fitoquímica de los extractos vegetales de *Illicium verum* y *Brosimum alicastrum* y su evaluación hemolítica.

TESISTA

EDGAR ISRAEL GALINDO CONTRERAS

Comité de Tesis

DIRECTORA DE TESIS

DRA. OSVELIA ESMERALDA RODRÍGUEZ LUIS

DIRECTOR EXTERNO

DR. DAVID GILBERTO GARCÍA HERNANDEZ

AGRADECIMIENTOS.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo otorgado a través de la beca 747480.

A la Maestría en Odontología Avanzada, al Dr. José Elizondo Elizondo y a la Dra. María Concepción Espinosa Rivera por permitirme vivir dos años de grandes experiencias, enseñanzas y convivencia.

Al laboratorio de microbiología de la Facultad de odontología y al laboratorio de química de productos naturales de la Facultad de ciencias biológicas por el tiempo y espacio brindados en la realización del presente trabajo.

Me gustaría externar mi más sincero agradecimiento a la Dra. Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis, directora de esta tesis, que me asesoro y brindó el apoyo para la realización de cada etapa del mismo, así como también al Dr. David Gilberto García Hernández por su valioso apoyo brindado en la realización de la tesis, gracias a ambos por sus valiosas sugerencias y enseñanzas, así como su interés en la realización del presente trabajo.

Al laboratorio de biología molecular de la Facultad de Ciencias Biológicas por permitirme el uso de su equipo y su invaluable ayuda en el desarrollo de este estudio.

A mi familia y a mi novia Leslie Melissa Bushbeck Contreras, por el apoyo moral que me han brindado y a todas las personas que contribuyeron de una forma u otra en la realización de este trabajo.

TABLA DE CONTENIDOS

Agradecimientos.....	i
Lista de tablas.....	iii
Lista de figuras.....	iv
Lista de gráficas.....	v
Nomenclatura.....	vi
Resumen.....	vii
Abstract.....	viii
1.- Introducción.....	1
2.- Hipótesis.....	2
3.- Objetivos.....	3
3.1 Objetivo general.....	3
3.2 Objetivos específicos.....	3
4.- Antecedentes.....	4
4.4 Hemólisis.....	14
5.- Material y métodos.....	16
5.1.- Material vegetal.....	16
5.2.- Obtención de los extractos.....	16
5.3.- Caracterización fitoquímica parcial de los extractos de <i>I. verum</i> y <i>B. alicastrum</i> mediante pruebas químicas.....	17
5.4.- Obtención del paquete globular.....	21
5.5.- Preparación del extracto en el solvente.....	22
5.6.- Evaluación del efecto hemolítico de los extractos etanólicos de <i>I. verum</i> y <i>B. alicastrum</i>	22
5.7.- Tratamiento.....	23
6.- Resultados.....	27
6.1 Obtención de los extractos.....	27
6.2 Tamizaje fitoquímico de los extractos <i>I. verum</i> y <i>B. alicastrum</i>	27
6.3 Evaluación del efecto hemolítico.....	28
7.- Discusión.....	32
8.- Conclusiones.....	34
9.- Literatura citada.....	35
Apéndices.....	38
Apéndice A.....	38
Apéndice B.....	39
Resumen biográfico.....	40

LISTA DE TABLAS.

Tabla	Página
I.- Pruebas químicas, metodología, compuesto a identificar y color de resultado positivo.....	18
II.- Concentraciones del Tratamiento.....	23
III.- Concentraciones del Blanco.....	24
IV.- Concentraciones control positivo.....	24
V.- Interpretación de porcentaje de efecto hemolítico.....	25
VI. - Identificación de sustancias activas en extracto etanólico <i>I. verum</i> . Presencia de sustancias activas positivo (+), negativo (-)	27
VII.- Identificación de sustancias activas en extracto etanólico <i>B. alicastrum</i> . Presencia de sustancias activas positivo (+), negativo (-)	28
VIII.- Porcentaje de hemólisis, tratamiento con extracto etanólico de <i>I. verum</i> . Respectivamente.....	29
IX.- Porcentaje de hemólisis del tratamiento con el extracto etanólico de <i>B. alicastrum</i> . Respectivamente.....	30

LISTA DE FIGURAS.

Figura	Página
1.- <i>Illicium verum</i>	7
2.- <i>Illicium verum</i> semilla (Anís estrella)	8
3.- <i>Brosimum alicastrum</i>	10
4.- Hojas de <i>B. alicastrum</i>	11
5.- Obtención del extracto de <i>B. alicastrum</i>	17
6.- Métodos químicos en placa de porcelana.....	20
7.- Extracto <i>I. verum</i> reaccionando positivo a la prueba fitoquímica de Antrona.....	20
8.- Extracto <i>B. alicastrum</i> reaccionando positivo a la prueba fitoquímica de Antrona.....	20
9.- Paquete globular con PBS en matríz de aforación.....	21
10.- Peso en balanza de 50 mg de extractos correspondientes de <i>I. verum</i> y <i>B. alicastrum</i>	22
11.- Distribución de evaluación de efecto hemolítico en microplaca.....	25
12.- Diagrama de Flujo de la metodología.....	26
13.- Microplaca, extracto etanólico de <i>I. verum</i> . (Anís estrellado)	38
14.- Microplaca, extracto etanólico de <i>B. alicastrum</i> . (Ramon).....	39

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica	Página
1.- Porcentaje de hemólisis del extracto etanólico de <i>I. verum</i> en sangre humana.....	29
2.- Porcentaje de hemólisis del extracto etanólico de <i>B. alicastrum</i> en sangre humana.....	31

NOMENCLATURA.

g gramos

mg miligramos

mL mililitros

nm nanómetros

rpm revoluciones por minutos

μL microlitros

PBS Buffer fosfato salino

ETOH etanol

TESISTA: Edgar Israel Galindo Contreras

DIRECTOR DE TESIS: Dra. Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis

DIRECTOR EXTERNO DE TESIS: Dr. David Gilberto García Hernández

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Obtención, caracterización fitoquímica de los extractos vegetales de *Illicium verum* y *Brosimum alicastrum* y su evaluación hemolítica.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Desde tiempos memorables se ha practicado la medicina tradicional u herbolaria. Por su parte, México posee un gran número de especies de plantas de las cuales sólo 3,000 han sido estudiadas para propósitos medicinales. Se ha encontrado en diversa literatura que hay plantas de las cuales, pueden generar propiedades antiinflamatorias u antimicrobianas.

OBJETIVO: Evaluar el efecto hemolítico de los extractos de *I. verum* y *B. alicastrum*.

METODOLOGÍA: Se realizó la obtención de extractos de *I. verum* y *B. alicastrum*, posteriormente se realizó el tamizaje fitoquímico, se evaluó el efecto hemolítico y, por último, se determinó el porcentaje de hemólisis. **RESULTADOS:** Mediante el tamizaje fitoquímico, *I.*

verum respondió positivo a la presencia de saponinas, esteroides, triterpenos, cumarinas, azúcares grupales e individuales; y resultó ser hemolítico incluso a concentración de 100ppm con 10.54% de hemólisis. Por otro lado, *B. alicastrum* respondió positivo a la presencia de esterol, triterpeno, taninos y azúcares grupales e individuales; y resultó ser ligeramente hemolítico a concentración de 100ppm a 5.74% de hemólisis. **CONCLUSIÓN:** Se piensa, en un futuro, usar estos extractos como un complemento local, específicamente para uso tópico, en los tratamientos de padecimientos odontológicos, debido a que la toxicidad presentada a los eritrocitos no estaría asociado a un tratamiento sistémico.

TESISTA: Edgar Israel Galindo Contreras

DIRECTOR DE TESIS: Dra. Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis

DIRECTOR EXTERNO DE TESIS: Dr. David Gilberto García Hernández

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Obtaining, phytochemical characterization and hemolytic evaluation of *Illicium verum* and *Brosimum alicastrum* plant's extracts.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Traditional or herbal medicine has been practiced since memorable times. For its part, Mexico has a large number of plant species of which only 3,000 have been studied for medicinal purposes. It has been found in various literature that there are plants of which, can generate anti-inflammatory or antimicrobial properties. **OBJECTIVE:** To evaluate the hemolytic effect of extracts of *I. verum* and *B. alicastrum*. **METHODOLOGY:** Extracts were obtained from *I. verum* and *B. alicastrum*, Subsequently, the phytochemical screening of both ethanolic extracts was carried out, the hemolytic effect of both extracts was evaluated and, finally, the percentage of hemolysis of the extracts was determined. **RESULTS:** Through phytochemical screening, *I. verum* responded positively to the presence of saponins, sterols, triterpenes, coumarins, group and individual sugars; and it turned out to be hemolytic even at a concentration of 100ppm with 10.54% hemolysis. Secondly, *B. alicastrum* responded positive to the presence of sterol, triterpene. group and individual tannins and sugars; and it turned out to be slightly hemolytic at a concentration of 100ppm at 5.74% hemolysis. **CONCLUSION:** It is thought, in the future, to use these extracts as a local supplement, specifically for topical use, in the treatment of dental diseases, since the toxicity presented to erythrocytes would not be associated with a systemic treatment.

1.- INTRODUCCIÓN

La medicina herbolaria en México es un método arraigado desde años anteriores, no sólo es practicada por curadores tradicionales, a su vez, la misma población es quien practica y tiene ciertos conocimientos, los cuales son empleados de acuerdo con sus necesidades económicas y sociales.

Actualmente, la población mundial está pasando por una etapa en la que gran cantidad de medicamentos, principalmente antibióticos ya no tienen la misma potencia con la que funcionaban anteriormente, quiere decir, que las bacterias con el tiempo se han vuelto resistentes ante estos. Por otro lado, desde tiempos memorables se ha practicado la medicina tradicional u herbolaria. Por su parte, México posee un gran número de especies de plantas de las cuales sólo 3,000 han sido estudiadas para propósitos medicinales.

Por lo cual se piensa que se puede recurrir a la fitoterapia para complementar los tratamientos farmacéuticos en el campo de la medicina y en nuestro caso, en el área de odontología y sus especialidades.

Se conoce que las plantas tienen estrategias de defensa contra ataques ocasionados por insectos u microorganismos patógenos. Como parte de la protección química, una estrategia utilizada por las plantas es la producción de metabolitos secundarios (MS) los cuáles son compuestos de bajo peso molecular que poseen propiedades antimicrobianas, entre otras.

Se ha encontrado en diversa literatura que hay plantas de las cuales, al obtener su extracto, u aceite esencial, pueden generar propiedades antiinflamatorias u antimicrobianas en su mayoría. Lo cual indica que podemos en el futuro, después de estudiar sus efectos adversos, podemos incluirlos como terapia post tratamiento, tales como cirugía dental, exodoncia dental.

2.- HIPÓTESIS

“Los extractos de *Illicium verum* y *Brosimum alicastrum* presentan efecto hemolítico”

3.- OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto hemolítico de los extractos de *Illicium verum* y *Brosimum alicastrum* sobre eritrocitos.

3.2 Objetivos específicos

- 1.- Obtener los extractos de *I. verum* y *B. alicastrum* mediante maceración en frío.
- 2.- Analizar la caracterización parcial cualitativa de los extractos de *Illicium verum* y *Brosimum* mediante tamizaje fitoquímico preliminar.
- 3.- Determinar la actividad hemolítica de los extractos *Illicium verum* y *Brosimum alicastrum* mediante la técnica de inhibición de hemólisis en eritrocitos humanos.
- 4.- Obtener el porcentaje hemolítico de los extractos de *Illicium verum* y *Brosimum alicastrum*.
- 5.- Determinar la concentración mínima hemolítica de los extractos *Illicium verum* y *Brosimum alicastrum*.

4. -ANTECEDENTES

4.1 Fitoterapia.

La fitoterapia es una práctica en la que se emplea el uso de plantas medicinales con fines curativos, y lleva en práctica desde hace más de 500 años. Han llegado a ser, en tiempos antiguos el principal y único recurso al alcance de los médicos. Este tipo de terapia utiliza los principios activos de las plantas para contrarrestar el malestar. (Echegaray y Echegaray 2011).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) refiere el concepto de fitoterapia, como una ciencia encargada del estudio de productos vegetales para su posterior utilización en la terapia de estados patológicos. Esta descripción diferencia el concepto de fitoterapia clásica con la de Fito medicina, donde la primera representa una forma tradicional basada en la práctica empírica, mientras que segunda involucra una transformación de la planta medicinal en medicamentos, previamente sometidos a ensayos clínicos, ya que la indicación para el empleo de una planta medicinal por vía oral (tisanas, extractos, tinturas, zumos) o aplicación tópica (pomadas, ungüentos), deberá regirse en tres fundamentos principales; eficacia, calidad y seguridad (Cicatrizacion & Words, 2014).

La primera vez que se escribió sobre la práctica de la medicina herbal fue en 1500 aC, en el Papiro de Ebers, el cuál describía cientos de plantas medicinales. En los últimos años ha aumentado la investigación para la aplicación terapéutica de las plantas en Odontología, para poder prevenir, tratar u minimizar síntomas de diversas patologías bucales. (de Oliveira Mota, I 2018).

Así mismo, al incrementar el interés por los beneficios que puede traer el uso de plantas como recurso medicinal, se debe también estudiar el efecto tóxico que pueden tener estas plantas en los seres humanos.

En cuanto el estudio de las plantas como recurso para tratamiento de enfermedades, se debe tener en cuenta que la planta tenga una mayor actividad farmacológica, que sea biocompatible, y que su toxicidad sea baja; y así mismo que pueda tener un costo accesible para la población. Todos estos aspectos los deben respaldar estudios clínicos y de laboratorios específicos. Varias sustancias son utilizadas como antisépticos como el tomillo, y el cacao, y en odontología son la granada, propóleo y aroeira por sus propiedades terapéuticas. (Francisco K 2010).

4.1.1 Métodos de preparación de plantas.

Existen diferentes tipos de preparación de las plantas; entre ellos están:

- ✚ Infusión (agua hirviendo sobre una planta fresca o seca, extrayendo los aceites esenciales volátiles)
- ✚ Decocción (se deja la planta en agua fría, posteriormente se hierve a 100°C por 7-8 minutos)
- ✚ Maceración (se deja la planta en agua, aceite u vinagre, el tiempo del proceso puede variar entre 12 hrs a 15 días)
- ✚ Tintura simple (se usa una parte de planta seca por 5 de alcohol al 20%)
- ✚ Tintura madre (se usa una parte de planta fresca por 10 de alcohol al 10%)
- ✚ Extracto (maceración de la raíz de la planta en solución hidro-alcohólica por 6 días, posteriormente se centrifuga a 280°C, obteniendo así los alcoholes solubles)

Las plantas medicinales poseen diferentes compuestos químicos en diversas partes de las plantas, pueden llegar a variar estos compuestos de mayor a menor grado dependiendo de la especie, suelo y el clima en el que se desarrolló el crecimiento de las plantas. (Echegaray y Echegaray 2011).

4.1.2 Sustancias activas en las plantas.

Los principales compuestos/ metabolitos secundarios son:

A) Alcaloides. Son compuestos que contienen nitrógeno básico. Se clasifican como:

1. Alcaloides derivados de ornitina y lisina.
2. Alcaloides derivados de tirosina y fenilalanina.
3. Alcaloides derivados del triptófano.
4. Alcaloides derivados del ácido nicotínico.
5. Alcaloides derivados de la histidina.

B) Fenoles. Comprende aproximadamente ochomil compuestos, (entre ellos se encuentran los ésteres, metil ésteres y glucósidos), originario del mundo vegetal. Los siguientes compuestos reducen el riesgo de diversas enfermedades, tales como: Enfermedad cardio vascular, hipertensión, cáncer y diabetes.

1. Fenoles simples, se encuentran en plantas en forma de heterósidos.
2. Ácidos fenólicos, puede estar unido a azúcares.
3. Taninos, poseen un grupo de compuestos hidrosolubles con estructura polifenólica.
4. Cumarinas, derivados de venzo- a- pirona.
5. Lignanos, poseen una estructura constituida por dos unidades de fenilpropano.
6. Quinonas, compuestos aromáticos con dos grupos cetona.
7. Flavonoides, constituyen un amplio grupo de fenoles naturales.

C)Taninos. Son bioactivos como antioxidantes y antimicrobianos. También son utilizados como antisépticos y astringentes.

1. Galotaninos.
2. Elagitaninos.

D) Flavonoides. De naturaleza fenólica y poseen dos anillos aromáticos bencénicos unidos por 3 átomos de carbono. Se le atribuyen propiedades antialérgicas, antiulcérica, antiinflamatoria, antiagregante plaquetario, etc.

1. Flavonas y Flavonoles, presentes en vegetales, son los más comunes.
2. Flavanonas y Flavanonoles
3. c) Antocianos, se encuentran como glucósidos, proporciona pigmentos a flores y frutos, su color es malva, rosa, violeta, azulado.
4. d) Isoflavonoides
5. e) Isoflavonas
6. f) Chalconas
7. g) Sulfatos de flavonoides
8. h) Biflavonoides

E) Saponinas. compuestos glucosídicos, producen espuma cuando se agita la solución acuosa, buen agente emulsionante. Tiene actividad hemolítica, antimicrobiana, antiinflamatoria, cicatrizante, entre otras. (Rojas L, Jaramillo J, Lemus B 2015).

4.2.- *Illicium verum*.



Figura 1.- *Illicium verum*.

Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Austrobaileyales
Familia	Magnoliaceae
Género	<i>Illicium</i>
Especie	<i>I.verum</i> ; Hook, f.

Illicium verum, o “Anís estrella” como se le conoce comúnmente, es un árbol de hoja perenne de una altura aproximada de 8- 15 m. Su vida media es de 80- 100 años. Contiene frutos cuya forma es estrellada, está compuesto por 8 carpelos que contienen semillas marrones. Suele recolectarse antes de que se complete su madurez, ya que contienen el aceite esencial máximo; dicho aceite se presenta como un líquido de color amarillo pálido (DE M, DE AK 2001). Tiene un tiempo de vida de más de 2 años, sus hojas son lanceoladas, de corteza blanca y tiene similitud con el laurel. (Verdezoto 2020) Este aceite tiene propiedades expectorantes, antiséptico, antipirético, y propiedades antimicrobianas. Esta última propiedad fue un efectivo bacteriostático frente a *B. subtilis*, *E. coli* y *S. cerevesiae*. (DE M, DE AK 2001).

El árbol generalmente crece en 4 provincias de la China, Corea, Vietnam del Sur, Indonesia, Filipinas y Japón. Los componentes encontrados hasta el momento son: monoterpenos: anetol (80- 90%), carburos terpénicos, cumarinas, triterpenos, y lactonas sesquiterpénicas. (Herrera 2009).



Figura 2.- *Illicium verum* semilla (Anís estrella).

El anís estrellado, ha demostrado poseer propiedades antimicrobianas potentes. Estudios han indicado que es efectivo contra bacterias, y hongos. (De M, De A.K, 2002).

Illicium verum Hook f. (anís estrellado, anís estrellado chino) es una especie leñosa comúnmente conocida como *ba jiao hui xiang* en China y se utiliza en la medicina tradicional china (MTC) como agente terapéutico. En línea con las directrices de la *Farmacopea China*, la medicina china contemporánea recomienda *I. verum* como una planta medicinal valiosa. Además, dos materias primas obtenidas de *I. verum* (fruta—*Anisi stellati fructus* y aceite esencial—*Anisi stellati aetheroleum*) han sido incluidas en la *Farmacopea Europea* desde 2002 (4ª edición). Ambos materiales exhiben efectos expectorantes y espasmolíticos. (Sharafan, et all. 2022).

Se tiene conocimiento mediante literatura que, el extracto de *I. verum* solubilizado en metanol tiene una potente acción depresora del SNC y posee un efecto ansiolítico sin interferir con la coordinación motora. (Chouksey, D y Upmanyu, N 2013).

Se conoce que el aceite esencial de *I. verum* tiene un efecto inhibitor en *P. aphanidermatum*, lo que quiere decir que el uso de aceites esenciales volátiles tiene varios beneficios sobre la aplicación directa de los propios aceites. Los aceites esenciales de *I. verum* pueden utilizarse como fumigantes para el control de enfermedades de plantas, y preservar las cosechas. (Huang Y y Zhao J 2010).

Por otro lado, hay estudios que indican que esta planta tiene ha presentado efecto inhibitorio contra

C. albicans (ATCC90029), y que posee fuerte actividad antifúngica. (Galindo Hernández 2018). También, se han realizado investigaciones in vitro, en donde *I. verum* en forma de infusión, tuvo efecto inhibitorio sobre *S. mutans*, en todas sus concentraciones, lo cual es importante en el área odontológica para poder prevenir la formación de caries dental. (Valladares Otoyá 2011).

Así mismo, se ha comparado también el efecto inhibitorio de *I. verum* con la clorhexidina al 0.12% sobre bacterias anaerobias facultativas primarias de la placa bacteriana, se descubrió que en todas las concentraciones de Clorhexidina 0.12% tenía mayor efecto inhibitorio que el *I. verum*. (Ruíz Hilario 2011).

Se ha encontrado que el extracto de la fruta de esta planta puede potencialmente desarrollarse como un protector de granos para controlar las plagas de insectos. (Wei, L y Hua, R. 2014) Inclusive, se tiene evidencia de que el extracto de *I. verum* tiene potencial como bioplaguicida ecológico en el manejo integrado de plagas contra *M. persicae*. (Zhou BG 2016).

Illicium verum ha demostrado en investigaciones anteriores contener una cantidad significativa de aceite, fenoles y flavonoides. Los cuales indican pueden tener un rol principal como antioxidante. (Madhu CS y Manukumar H M 2014).

Por otro lado, *I. verum*, su aceite esencial representa un 5%- 8%, etanol (80:90%), trananetal, monoterpenos u aldehídos, y entonas anísicas, estragol, safrol, grasos. (Galindo 2018). Uno de los compuestos químicos del *I. verum* es el ácido shikímico, importante precursor en la síntesis farmacológica de medicamentos contra la influenza, conocido como el oseltamivir (Tamiflu), debido a esto, existe una fuerte demanda del *I. verum*.

I.verum contiene poderosos antioxidantes terpénicos como lo son Linalol y Limoneno. Respectivamente, el linalol protege la bicapa lipídica de las membranas celulares de arterias y mejora el flujo sanguíneo; el limoneno tiene actividad anticancerosa.

Illicium verum tiene propiedades antifúngicas, antibacterianas, carminativas, analgésicas, anticancerígenas, sedantes y antioxidantes. (Singh P y Mishra N 2020). Hoy en día, *I. verum* es una planta medicinal importante en todo el mundo. Los estudios científicos recientes han demostrado que la fruta y el aceite esencial de *I. verum* se caracterizan por actividades biológicas como efectos antibacterianos, antifúngicos, antiinflamatorios y antioxidantes. La planta también es ampliamente utilizada en la industria alimentaria como especia. (Sharafan, et all. 2022).

4.3.- *Brosimum alicastrum*.



Reino	Plantae
Clase	Magnoliopsida
Orden	Rosales
Familia	Moraceae
Género	<i>Brosimum</i>
Especie	<i>B. alicastrum</i> ; Sw. 1788

Figura 3.- *Brosimum alicastrum*.

Brosimum alicastrum es un árbol tropical grande y perenne que está ampliamente distribuido en México. Sus semillas y hojas son ricas en proteínas y se pueden usar para alimentos y forraje, además se pueden hacer varios medicamentos y bebidas a partir de partes del árbol. Aunque es un

alimento alternativo importante en la época precolombina, el uso actual del árbol es muy limitado. Estudios recientes indican que su mayor uso sería extremadamente beneficioso, y que los medios más inmediatos para lograrlo son la recolección y el procesamiento de semillas de bosques naturales y el establecimiento de plantaciones para forraje. (Peters, et al. 1982).

Brosimum alicastrum o “Ramon” como se le conoce comúnmente, en México es uno de los árboles que predominan en las zonas tropicales, y se encuentra en altitudes de entre 50- 800 metros sobre el nivel del mar, desde Sinaloa hasta Chiapas, entre otros. (TUN 2021).

El árbol tiene una altura por lo regular de 45 m, su corteza externa es lisa, parda, grisácea; las hojas son alternas, de color verde oscuro y brillante en el haz y verde grisáceas en el envés, ovadas o elípticas (2- 7.5 cm de ancho por 4-18 cm de longitud) su ápice es agudo, margen entero. (Ramírez 2015).



. **Figura 4.-** Hojas de *B. alicastrum*.

Por otro lado, *B. alicastrum*, tiene una cualidad importante para adaptarse a diversas condiciones ambientales, esto debido a que es capaz de realizar fotosíntesis con alta eficiencia en el uso de agua incluso con altas temperaturas presentes. (TUN 2021).

El empleo del *B. alicastrum* es diverso, se le da uso artesanal, comestible, construcción, maderables, medicinal e industrial. (Ramírez 2015).

Brosimum alicastrum Swartz es una especie perteneciente a la familia Moraceae que se distribuye por México y Centroamérica. Los frutos, hojas, látex y corteza de este árbol son ampliamente empleados en la medicina tradicional mexicana. En particular, la corteza se utiliza en el tratamiento de dolores torácicos, asma, diabetes y cáncer uterino. (Barragán-Mendoza, et all. 2022).

B. alicastrum tiene la presencia de metabolitos secundarios como lo son: polifenoles, triterpenos-esteroides.

El *B. alicastrum*, Ramon, cumple con características agronómicas y nutritivas, se ha demostrado que cuenta con óptimos rendimientos productivos y contiene nulo u escasos niveles de compuestos anti nutricionales que lo convierten en una alternativa de gran importancia en la alimentación para rumiantes. (Rojas-Schroeder JA, Sarmiento-Franco L 2017).

Dentro de los usos que se le ha dado a *B. alicastrum*, uno de ellos, es su capacidad nutricional. La harina de *B. alicastrum*, es uno de los recursos más notorios dentro de la biodiversidad mexicana, posee propiedades nutricionales y funcionales. (Subiría- Cueto 2018).

De hecho, se conoce que el almidón del *B. alicastrum* tiene un potencial alto para la aplicación de sistemas de aplicación (Pérez Pacheco 2014).

El añadir la harina de *B. alicastrum* en tortillas aumenta la actividad antioxidante, el contenido de minerales, fibra soluble, proteína, triptófano, de los compuestos normales fenólicos totales, y flavonoides totales (Moo- Huchin 2018).

Se sabe que *B. alicastrum* tiene cualidades nutritivas con las cuales se puede considerarle como opción para nutrir a diferentes especies animales.

Por otro lado, se conoce también que la harina de semilla de *B. alicastrum* no aporta lactosa y favorece la elaboración de bebidas de apariencia láctea, la semilla tampoco contiene cafeína, lo que puede ser importante tomando en cuenta la cantidad de personas que son intolerantes a la lactosa y son sensibles a la cafeína. Cabe destacar que en México la harina de la semilla de dicha planta se obtiene siendo producto orgánico, sin gluten, y su aporte en macro y micronutrientes resulta importante para la dieta en personas que padecen enfermedad celíaca. (Del Rocío Martínez 2019).

Se tiene conocimiento que para obtener el extracto de *B. alicastrum* y analizar sus compuestos fenólicos, lo ideal es el método de, el extracto, etanol / agua, ya que se encontró que como solvente es más eficiente en cuanto el proceso de extracción, mayor actividad antioxidante, y mayor contenido de ácido gálico, ácido clorogénico y ácido vainílico. (Moo-Huchin, V y Canto-Pinto J 2019).

La COFEPRIS tiene como uno de sus principales objetivos, asegurar el uso racional de medicamentos, protegiendo a la población de los riesgos a la salud que presenta el manejo y uso inadecuado de medicamentos. Según la Norma Oficial Mexicana NOM- 072- SSA1- 2012 “Etiquetado de medicamentos y de remedios herbolarios”, se le denomina dispensación al “acto profesional cuyos objetivos son la entrega de insumos para la salud en condiciones óptimas y de acuerdo con la normatividad vigente y protección del paciente frente a la posible aparición de problemas relacionados con medicamentos. Implica la información al paciente sobre la medicación que va a utilizar, la detección de situaciones en las que hay un riesgo de sufrir problemas relacionados con los medicamentos, y tomar decisiones beneficiosas para el paciente” (COFEPRIS, 2014).

4.4 Hemólisis

La hemólisis es la liberación de los componentes intracelulares de los eritrocitos, trombocitos y leucocitos en el líquido extracelular. Este suceso puede dar alteraciones en magnitudes significativas si se trata de analizar muestras específicas. La lisis de los trombocitos y granulocitos también puede influir en los resultados de análisis, aunque la hemólisis no sea visible.

La hemólisis puede ocurrir al momento de extraer la sangre, puede deberse a: Aspiración intensa durante la punción artificial de las venas, obstrucción parcial de un catéter venoso u arterial. (Thomas 2002).

Durante la hemólisis, los eritrofagocitos eliminan los glóbulos rojos dañados. Esto previene la liberación extracelular de hemoglobina, desintoxica el hemo y recicla el hierro en una vía metabólica vinculada. Complementario a este proceso, la haptoglobina y la hemopexina eliminan y transportan las toxinas de los glóbulos rojos, la hemoglobina y el hemo al aclaramiento celular. La hemólisis patológica supera la capacidad de los macrófagos y la síntesis de carroñeros en una diversidad de enfermedades. Este desequilibrio conduce a la progresión de la enfermedad impulsada por la hemoglobina. Para satisfacer un vacío en las opciones de tratamiento, las terapias basadas en proteínas carroñeras están en desarrollo clínico. (Vallelian, et all. 2022).

La hemólisis puede ser el resultado de la capacidad que tiene la saponina para formar complejos con el colesterol de la membrana celular, formando poros, y aumento de la permeabilidad celular. El mecanismo que lleva a la hemólisis se debe a que, las saponinas penetran la bicapa lipídica, y se acumulan en el microdominio de la balsa lipídica. Las balsas de estos lípidos son microesferas dentro de las membranas celulares que contienen colesterol y esfingolípidos; las saponinas se unen al colesterol en la membrana lipídica y evitan que el colesterol interactúe con la esfingomielina;

las micelas de saponina- colesterol desestabilizan la estructura de la balsa lipídica, cuanto mayor es la concentración de saponinas en el extracto, mayor efecto hemolítico será encontrado. (Kundishora A 2020).

Las anemias hemolíticas causadas por la destrucción prematura de los glóbulos rojos ocurren en muchos trastornos, incluidas las hemoglobinopatías, las afecciones autoinmunes, durante la infección o después de la reacción a medicamentos o transfusiones. Estudios recientes que se revisarán aquí han descubierto varios mecanismos novedosos por los cuales la hemólisis puede alterar las funciones inmunológicas y aumentar el riesgo de complicaciones graves en los trastornos hemolíticos. (Zhong, et all. 2018).

5.- MATERIAL Y MÉTODOS

5.1.- Material vegetal.

Las muestras del material vegetal de *I. verum*, se obtuvieron del estado de Sonora. y *B. alicastrum* del estado de Chiapas.

5.2.- Obtención de los extractos.

Para la preparación de los extractos de ambas plantas, se pesaron 100 g de material vegetal seco, se depositó en un matríz de un litro con 500 mL de solvente etanol, se dejaron reposar durante una semana realizándose agitaciones durante el día, por 5 a 10 minutos, posteriormente se realizó la filtración empleando embudo de separación y papel filtro, el filtrado obtenido se llevó a sequedad con rotavapor a 40°C al vacío a temperatura ambiente (Galindo H. 2018). El extracto obtenido se colocó en un frasco contenedor y se llevó al secado, para posteriormente ser empleado en las diversas pruebas realizadas, a continuación, se muestra el proceso desarrollado (Figura 5).



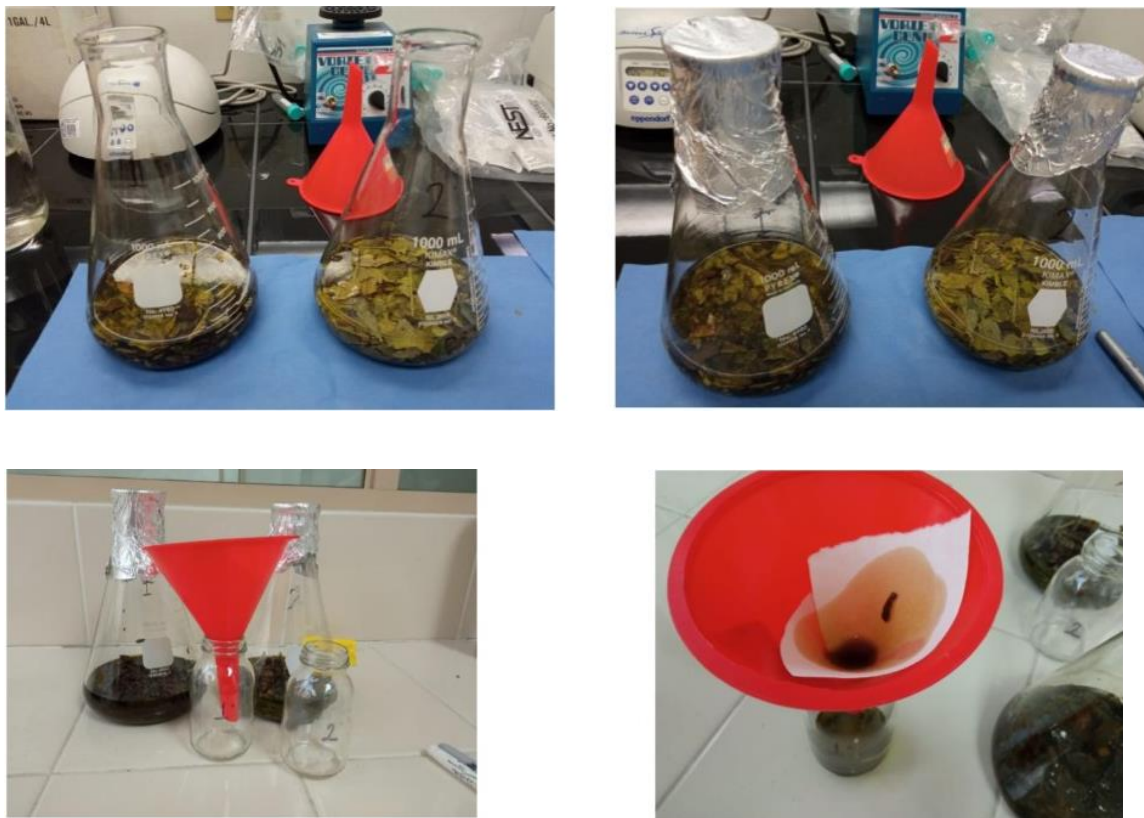


Figura 5.- Obtención del extracto de *B. alicastrum*. Hojas secas de la planta; Hojas en matraces con solvente para maceración en frío; Filtrado.

5.3.- Caracterización fitoquímica parcial de los extractos de *I. verum* y *B. alicastrum* mediante pruebas químicas.

Se realizó la caracterización fitoquímica mediante un ensayo de identificación química de metabolitos secundarios siguiendo el protocolo desarrollado por Domínguez *et al*, 1973.

Para realizar el tamizaje fitoquímico, se tomó una muestra del extracto en cuestión y se llevó a un tubo de ensayo, se suspendió a la mitad del tubo con etanol (ETOH) y se sonicó (tubos padre).

Aparte en una gradilla fueron colocados tubos de ensayo, en los que se depositó en partes iguales el contenido del “tubo padre” más agua destilada para posteriormente realizar las pruebas químicas correspondientes, que se aprecia en la siguiente (Tabla 1).

Tabla I.- Pruebas químicas, metodología, compuesto a identificar y color de resultado positivo

Prueba química	Metodología	Grupos químicos a identificar	Color prueba positiva
Lieberman Burchard	2 gotas de reactivo (una gota de ácido sulfúrico a una mezcla de 1.0 mL de anhídrido acético y 1.0mL de cloroformo)	Esteroles, Triptenos	Rojizo, Rosa, Violeta- morado
Hidróxido de sodio 10%	2 gotas de solución acuosa amarillo anaranjado que desaparece al agregar 2 gotas de HCL al 10%	Cumarinas	
Baljet	Solución A: 1 g de ácido pícrico en 100mL de etanol. Solución B: 10 g de hidróxido de sodio en 100 mL de agua.	Sesquiterpenlactonas	Naranja- rojo oscuro

Ácido sulfúrico	2 gotas de ácido sulfúrico concentrado	Quinonas	Rojo
Shinoda	Limaduras de magnesio y unas gotas de ácido clorhídrico	Flavonoides, Flavononas y Flavononoles	Rojo. Verde- violeta
Cloruro férrico	2 gotas de la solución de cloruro férrico en agua al 2.5%	Taninos	Oscuro
Dragendorff	Solución A: 0.85g de nitrato de bismuto, 10 mL ácido acético glacial y 40 mL de agua. Solución B: 8 g de yoduro de potasio y 20 mL de agua.	Alcaloides	Rojo- naranja

Fueron realizadas las siguientes pruebas químicas, como la de Liebermann Buchard, Hidróxido de sodio, Baljet, y Ácido sulfúrico (H₂SO₄) se realizó en placas de porcelana (**Figura 6**); por otro lado, las pruebas de Saponinas, Shinoda, Taninos, Antrona se realizaron en tubo de ensayo (**Figura 7 y 8**) y Dragendorff en una placa de silica gel.



Figura 6.- Métodos químicos en placa de porcelana.



Figura 7.- Extracto *I. verum* reaccionando positivo a la prueba fitoquímica de Antrona. Podemos observar como reacción positiva a esta prueba la presencia de un anillo de tono azul oscuro como interfaz que divide al extracto etanólico del sobre nadante de agua destilada.



Figura 8.- Extracto *B. alicastrum* reaccionando positivo a la prueba fitoquímica de Antrona. Podemos observar como reacción positiva a esta prueba la presencia de un anillo de tono azul oscuro como interfaz que divide al extracto etanólico del sobre nadante de agua destilada.

5.4.- Obtención del paquete globular.

A continuación, se describe el procedimiento realizado para la obtención del paquete globular y así determinar la acción de hemólisis de los extractos.

5.4.1.- Obtención de la sangre.

Se obtuvo la muestra de sangre según la NORMA Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.

5.4.2.- Preparación de la sangre.

La sangre obtenida pertenece al grupo de sangre humana O+. Se centrifugó 2.5mL de sangre a 3000 rpm x 15 minutos a temperatura ambiente. Se extrajo el sobrenadante cuidadosa y posteriormente se lavó el precipitado 4 veces con PBS (Buffer de Fosfatos Salino isotónico, pH 7.4).

Se tomaron los 2.5 mL de sangre y fueron colocados en un matraz para aforar con PBS para tener listo el paquete globular.



Figura 9.- Paquete globular con PBS en matraz de aforación.

5.5.- Preparación del extracto en el solvente.

Una vez obtenido el paquete globular, se tomaron y pesaron 50 mg de extracto de *I. verum* y *B. alicastrum* en un frasco, y después de disolvió en 1 ml de ETOH (etanol).

$$C_I = (1000\text{ppm}) (1250 \mu\text{L})$$

$$25 \mu\text{L}$$

$$C_I = 50\,000 \text{ ppm} = 50 \text{ mg/ml}$$



Figura 10.- Peso en balanza de 50 mg de extractos correspondientes de *I. verum* y *B. alicastrum*, para después disolverlos en 1 ml de solvente ETOH.

5.6.- Evaluación del efecto hemolítico de los extractos etanólicos de *I. verum* y *B. alicastrum*.

Para continuar con la evaluación hemolítica, se realizaron los ensayos empleando microplacas de 96 pozos, para la determinación del efecto hemolítico mediante el uso de extractos etanólicos de *I. verum* y *B. alicastrum*. Como se describe en las siguientes tablas para cada uno de los ensayos de ambos extractos, se realizaron por triplicado para obtener reproducibilidad de los datos y una mayor precisión al momento de realizar las lecturas en el espectrofotómetro.

5.7.- Tratamiento.

Tomando 250 μL del paquete globular se suministran en 6 tubos cónicos de 1.5 mL de menor a mayor concentración, se suministran de 975 hasta 997.5 μL de PBS, posteriormente se añadieron de mayor a menor 25 μL a 2.5 μL de cada extracto.

Tubos	Extracto (μL)	PBS (μL)	P. G. (μL)
1	25	975	250
2	20	980	250
3	15	985	250
4	10	990	250
5	5	995	250
6	2.5	997.5	250

Tabla II.- Concentraciones del Tratamiento.

Una vez aplicado el PBS, paquete globular y el tratamiento, se llevó a la incubadora por 30 minutos a 37°C protegidos de la luz. Posteriormente se realizó la centrifugación de los tubos cónicos a 13 000rpm por 5 minutos a 4°C. Terminado el tiempo de centrifugado se tomaron 100 μL de cada tubo y se depositaron en una microplaca de 96 pocillos, para determinar el porcentaje de hemólisis mediante lecturas espectrofotométricas a 550 nm.

Se realizó la preparación del blanco, se tomaron 250 μL de PBS se suministraron en 6 tubos cónicos de 1.5ml de menor a mayor se suministró de 975 a 997.5 μL de PBS, se agregó de mayor a menor 25 μL hasta 2.5 μL de cada extracto.

Tubos	Extracto (μL)	PBS (μL)	PBS (μL)
1	25	975	250
2	20	980	250
3	15	985	250
4	10	990	250
5	5	995	250
6	2.5	997.5	250

Tabla III.- Concentraciones del Blanco.

Así mismo se realizó la preparación del control positivo y se tomaron 250 μL de paquete globular y se suministró en 6 tubos cónicos de 1.5 ml y se le suministró 1000 μL de agua destilada.

<i>Tubos</i>	A. D. (μL)	P. G. (μL)
1	1000	250
2	1000	250
3	1000	250
4	1000	250
5	1000	250
6	1000	250

Tabla IV.- Concentraciones control positivo.

Una vez aplicado el paquete globular y el agua destilada, se lleva a la incubadora por 30 minutos a 37°C protegidos de la luz. Posteriormente se llevó a centrifugar los tubos cónicos a 13 000rpm por 5 minutos a 4°C. Terminado el tiempo de centrifugado se tomaron 100 μL de cada tubo y se depositaron en una microplaca de 96 pocillos, para determinar el porcentaje de hemólisis mediante lecturas espectrofotométricas a 550 nm.

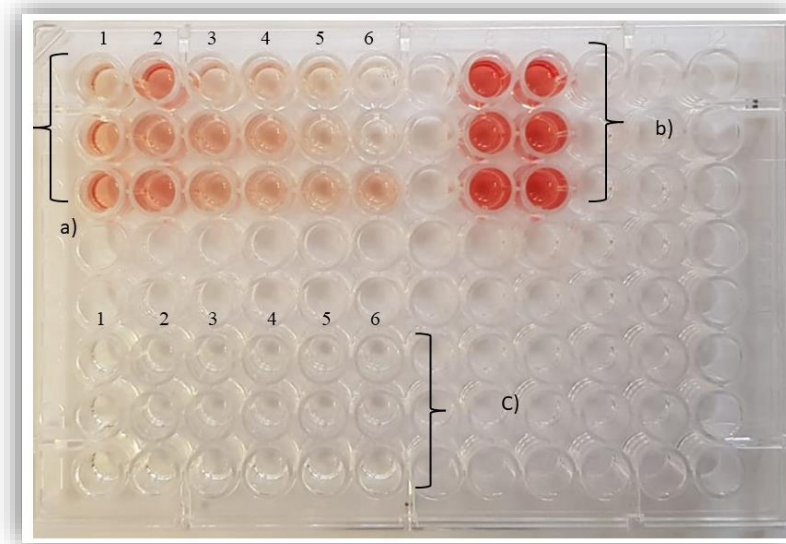


Figura 11.- Distribución de evaluación de efecto hemolítico en microplaca. **a)** Tratamiento. **b)** control positivo. **c)** control blanco. Como podemos observar, el inciso **a)** y **b)** representan bien los ensayos triplicados del tratamiento y blanco.

5.6.1.- Interpretación de resultados evaluación efecto hemolítico.

Según el protocolo determinado por Mesdaghinia *et al* 2019, el porcentaje de hemólisis en las muestras puede ser interpretado de la siguiente manera:

Valor	Efecto hemolítico
<2 %	No hemolítico
2- 5%	Ligeramente hemolítico
>5%	Hemolítico

Tabla V.- Interpretación de porcentaje de efecto hemolítico.

A continuación, se describe el diagrama experimental realizado en este trabajo.

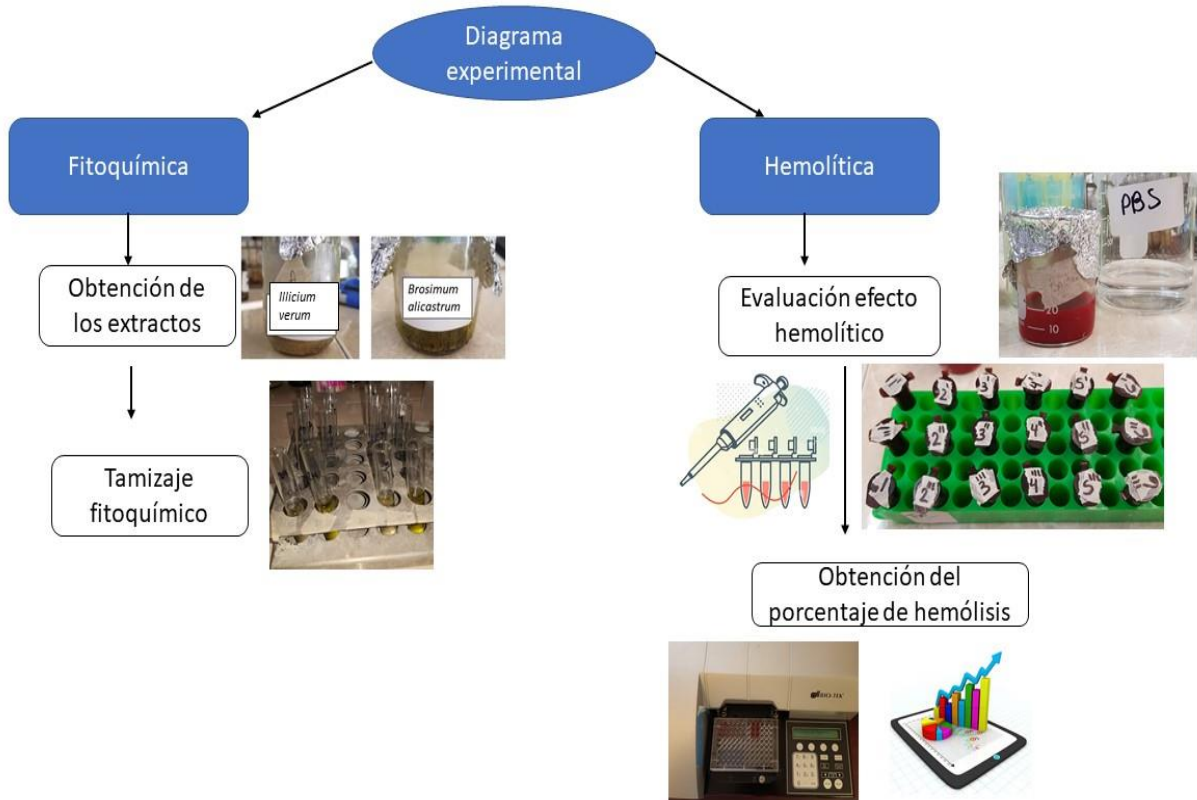


Figura 12.- Diagrama de Flujo de la metodología.

6.- RESULTADOS.

6.1 Obtención de los extractos.

Se pudieron obtener extractos con características ideales para los ensayos experimentales con un rendimiento de 52 g para *I. verum* y 36 g para *B. alicastrum*.

6.2 Tamizaje fitoquímico de los extractos *I. verum* y *B. alicastrum*.

Mediante el tamizaje fitoquímico se pudo identificar la respuesta positiva para las pruebas químicas de Liebermann Burchard, Hidróxido de sodio 10%, Baljet, Ácido sulfúrico, Saponinas, Shinoda, Cloruro Férrico, Antrona, y Dragendorff en el extracto etanólico de *I. verum*.

Prueba química	<i>I.verum</i>	Sustancia activa
Liebermann-Burchard	+	Esteroles triterpenos
Hidróxido de sodio 10%	+	Cumarinas
Baljet	+	Sesquiterpenlactonas
Ácido Sulfúrico	-	Quinonas
Saponinas	+	Esterol, triterpeno
Shinoda	-	Flavonoides, flavolonones, flavolononas
Cloruro Férrico	-	Taninos
Antrona	+	Azúcar individual/ grupal
Dragendorff	-	Alcaloides

Tabla VI.- Identificación de sustancias activas en extracto etanólico *I. verum*. Presencia de sustancias activas positivo (+), negativo (-).

Por otro lado, el extracto etanólico de *B. alicastrum* presentó reacción positiva para las pruebas de Liebermann Burchard, Hidróxido de sodio 10%, Baljet, Ácido sulfúrico, Saponinas, Shinoda, Cloruro Férrico, Antrona, y Dragendorff.

Prueba química	<i>B. alicastrum</i>	Sustancia activa
Liebermann-Burchard	+	Esteroles triterpenos
Hidróxido de sodio 10%	-	Cumarinas
Baljet	-	Sesquiterpenlactonas
Ácido Sulfúrico	-	Quinonas
Saponinas	+	Esterol, triterpeno
Shinoda	-	Flavonoides, flavolonones, flavolononas
Cloruro Férrico	+	Taninos
Antrona	+	Azúcar individual/ grupal
Dragendorff	-	Alcaloides

Tabla VII.- Identificación de sustancias activas en extracto etanólico *B. alicastrum*. Presencia de sustancias activas positivo (+), negativo (-).

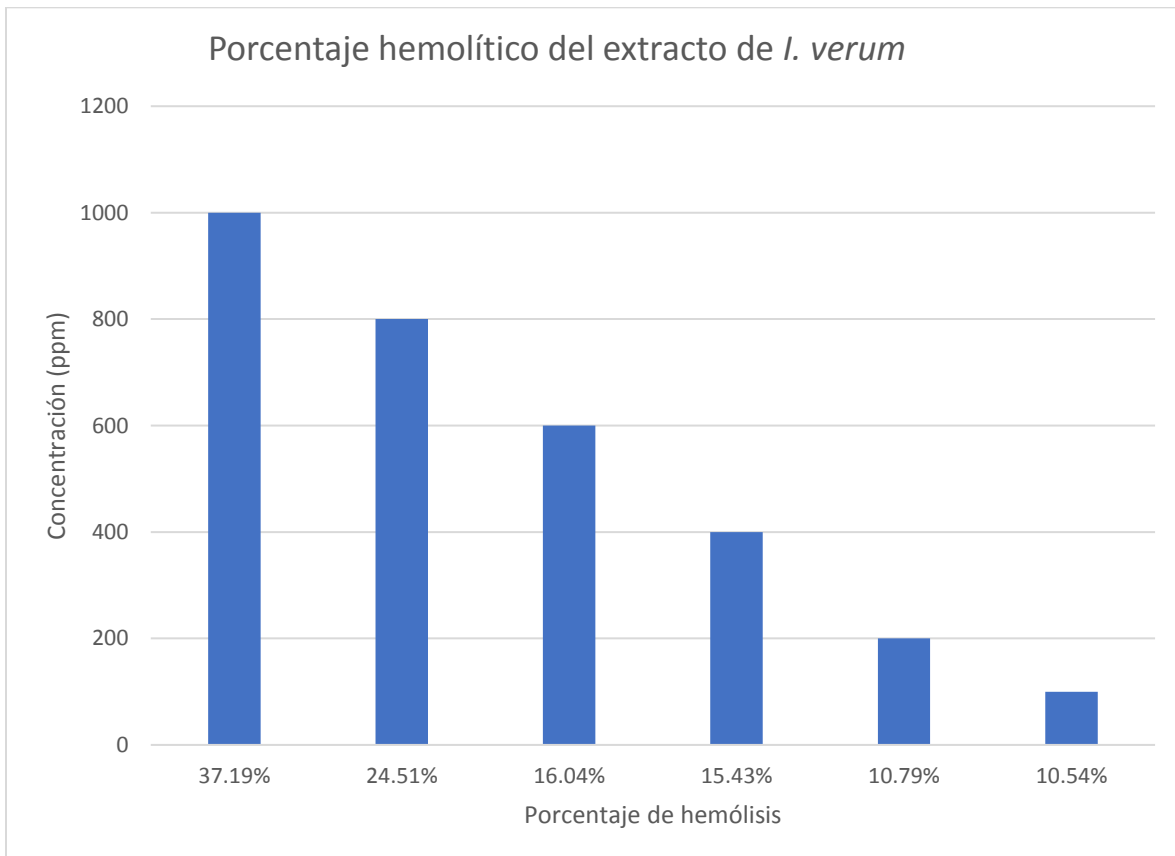
6. 3 Evaluación del efecto hemolítico.

En la tabla siguiente, podemos observar el porcentaje de hemólisis encontrado al usar como tratamiento el extracto etanólico de *I. verum*, diluido en PBS y P.G. De mayor a menor obtuvimos un 37.19% de hemólisis a concentración de 1000 ppm del extracto, y un 10.54% de hemólisis a concentración de 100 ppm del extracto.

6.3.1 Efecto hemolítico extracto etanólico de *I. verum*.

Concentración (ppm)	Porcentaje de hemólisis
1000	37.19
800	24.51
600	16.04
400	15.43
200	10.79
100	10.54

Tabla VIII.- Porcentaje de hemólisis, tratamiento con extracto etanólico de *I. verum*. Respectivamente.



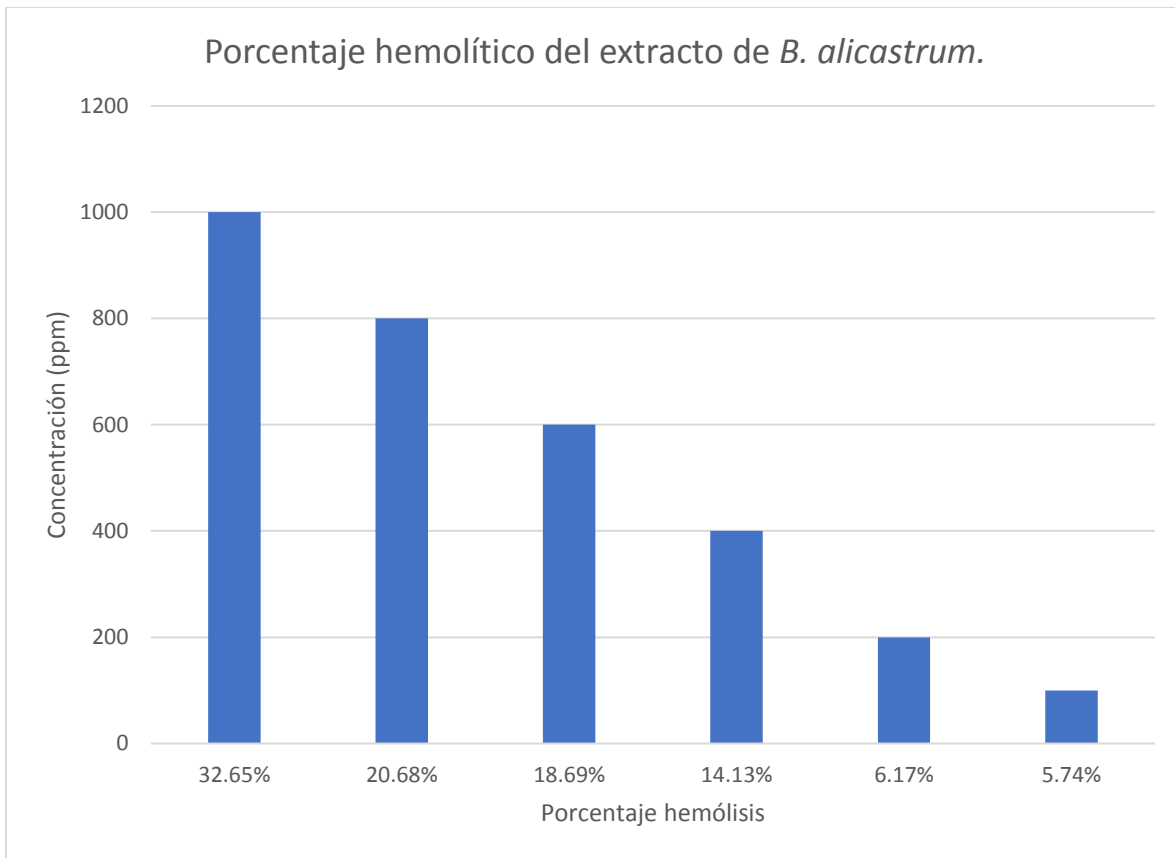
Gráfica 1.- Porcentaje de hemólisis por concentración de partes por millón del extracto etanólico de *I. verum* en sangre humana.

6.3.2 Efecto hemolítico extracto etanólico de *B. alicastrum*.

En la tabla siguiente, podemos observar el porcentaje de hemólisis encontrado al usar como tratamiento el extracto etanólico de *B. alicastrum*, diluido en PBS y P.G. De mayor a menor obtuvimos un 32.65% de hemólisis a concentración de 1000 ppm del extracto, y un 5.74% de hemólisis a concentración de 100 ppm del extracto.

<i>Concentración (ppm)</i>	<i>Porcentaje de hemólisis</i>
<i>1000</i>	32.65
<i>800</i>	20.68
<i>600</i>	18.69
<i>400</i>	14.13
<i>200</i>	6.17
<i>100</i>	5.74

Tabla IX.- Porcentaje de hemólisis del tratamiento con el extracto etanólico de *B. alicastrum*. Respectivamente.



Gráfica 2.- Porcentaje de hemólisis por concentración de partes por millón del extracto etanólico de *B. alicastrum* en sangre humana.

7.- DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos al buscar un efecto hemolítico en los extractos han sido interpretados basándonos en el criterio según Mesdaghinia *et al* 2019, quien reporta que se puede considerar ligeramente hemolítico cuando los resultados son entre 2- 5% y > 5% hemolítico.

En nuestro estudio, los resultados obtenidos de la evaluación hemolítica demostraron que el extracto de *Illicium verum* a la concentración de 100 ppm presentó un 10.54% de hemólisis. Por otro lado, los resultados obtenidos de hemólisis de *Brosimum alicastrum* a la concentración mínima de 100 ppm produjo un 5.74% de hemólisis. Según ASTM E2524- 08 (Standar Test Method for Analysis of Hemolytic Properties of Nanoparticles) 2013, la hemólisis > 5% indica daño a los glóbulos rojos. Siguiendo con el parámetro mencionado anteriormente, podemos observar similitud con los datos obtenidos en otro estudio, (Jonghoon y Vytas 2011) en el cual se evaluó el efecto hemolítico de partículas de plata del tamaño de una micra (Ag- MP and Ag- MP-H) ocasionó menos del 12% de hemólisis incluso en altas concentraciones, a comparación de nuestros resultados respecto a *B. alicastrum* que incluso en concentraciones de 100 ppm no supera el 5.74% de hemólisis.

Se encontró en otro estudio en el que se realizaron pruebas de toxicidad con el extracto metanólico de *Cymbopogon Citratus* (Hernández 2020), el cual encontraron datos favorables a la concentración de 600 ppm con un 13% de hemólisis. A comparación de nuestro estudio, *I. verum* tiene efecto hemolítico incluso más bajo que *C. citratus*, y se debe tomar en cuenta el solvente en el que fue suspendido *I. verum* el cual fue etanol. Por otro lado, con los estudios de toxicidad donde evaluaron el extracto de *C. citratus* (Martínez 2000), determinaron que aun cuando presentó un 30% de hemólisis se consideraba con una baja toxicidad, ya que no presentaba daño en humanos y concluyeron que, de dicho extracto, la dosis máxima para una persona de hasta 70 kg representaría consumir 800 gr de la planta estudiada. Podemos comparar los bajos porcentajes de hemólisis que produjeron nuestros extractos, ya que incluso a 600ppm de ambos extractos, no excedió ni siquiera el 20% de hemólisis.

En otro estudio, los autores evaluaron la actividad hemolítica de las hojas de *P. curatellifolia* frente a eritrocitos de oveja, (Kundishora 2020) en su estudio consideran que los extractos de plantas se consideran tóxicos para los glóbulos rojos si el porcentaje de hemólisis es superior al 30% según

los criterios del ISO 10993-5 el cual indica que la reducción de la viabilidad celular en más del 30% se considera un efecto citotóxico. Encontraron que el extracto más enriquecido en saponina tuvo el mayor porcentaje de hemólisis del 12,2%, son similares a nuestro estudio, ya que, *I. verum* tuvo un menor porcentaje de hemólisis (10.54%), y ambos contienen saponinas. Con esto podemos interpretar el papel que tienen los componentes químicos en cuanto al efecto hemolítico.

Es importante, al interpretar el efecto hemolítico que tuvo *I. verum*, recordar que dio resultado positivo a la presencia de las saponinas, y debemos recordar que en revisiones bibliográficas se ha demostrado el efecto que tiene este compuesto químico sobre los glóbulos rojos, y es bien conocido que puede ocasionar hemólisis.

8.- CONCLUSIONES.

Con los resultados obtenidos, se piensa, en un futuro, usar estos extractos como un complemento local, específicamente para uso tópico, en los tratamientos de padecimientos odontológicos, debido a que la toxicidad presentada a los eritrocitos no estaría asociado a un tratamiento sistémico. Se debe considerar dar seguimiento a evaluar la actividad antimicrobiana debajo de las 100 ppm en ambos extractos, así mismo, trabajar con bacterias de interés clínico para evaluar el efecto antimicrobiano. Se considera realizar más investigación sobre *B. alicastrum*, ya que actualmente, no hay suficiente literatura que hay investigado dicho material vegetal, y así, poder conocer las propiedades que puede poseer y evaluar si presenta actividad antimicrobiana, ya que resultó que es menos hemolítico que *I. verum*.

9.- LITERATURA CITADA.

1. DE M, DE AK (2001). Actividad antimicrobiana de *Illicium verum* Hook. f. *Ars Pharmaceutica*, 42:3-4; 209-220
2. Verdezoto Sánchez, K. E. (2020). *Efecto inhibitorio de la infusión de Anís Estrellado (Illicium verum) sobre la Porphyromonas gingivalis. Estudio in vitro* (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
3. Herrera C k. (2009) Intoxicación por anís de estrella *Acta pediátr. costarric* vol.21 n.1 San José Jan
4. De, M., De, A. K., Sen, P., & Banerjee, A. B. (2002). Antimicrobial properties of star anise (*Illicium verum* Hook f). *Phytotherapy Research*, 16(1), 94-95.
5. Chouksey, D., Upmanyu, N., & Pawar, R. S. (2013). Central nervous system activity of *Illicium verum* fruit extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 6(11), 869-875.
6. Galindo Hernández, M. E. (2018). *Obtención y caracterización fitoquímica de extractos vegetales y su evaluación antimicótica para su aplicación en odontopediatría* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
7. Valladares Otoya, E. K. (2011). Efecto Inhibitorio" In Vitro" De La Infusión De Anís Estrella (*Illicium verum*) Sobre El Crecimiento De *Streptococcus Mutans*.
8. Ruíz Hilario, C. K. (2011). Efecto Inhibitorio" In Vitro" De La Infusión De Anís Estrella (*Illicium verum*) Y De La Clorhexidina Al 0.12% Sobre Bacterias Anaerobias Facultativas Primarias De La Placa Bacteriana.
9. Wei, L., Hua, R., Li, M., Huang, Y., Li, S., He, Y. y Shen, Z. (2014). Composición química y actividad biológica de los extractos de anís estrellado *Illicium verum* contra el gorgojo del maíz, adultos de *Sitophilus zeamais*. *Revista de ciencia de insectos*, 14 (1), 80.
10. Zhou, BG, Wang, S., Dou, TT, Liu, S., Li, MY, Hua, RM, ... y Lin, HF (2016). Actividad aficida de extractos de frutas de *Illicium verum* y sus efectos sobre las actividades acetilcolinesterasa y glutatión S-transferasas en *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Revista de ciencia de insectos*, 16 (1), 11.
11. Sharafan, M., Jaferník, K., Ekiert, H., Kubica, P., Kocjan, R., Blicharska, E., & Szopa, A. (2022). *Illicium verum* (anís estrellado) y trans-anetol como materias primas valiosas para aplicaciones medicinales y cosméticas. *Moléculas (Basilea, Suiza)*, 27(3), 650.
12. Huang, Y., Zhao, J., Zhou, L., Wang, J., Gong, Y., Chen, X., ... & Jiang, W. (2010). Antifungal activity of the essential oil of *Illicium verum* fruit and its main component trans-anethole. *Molecules*, 15(11), 7558-7569.
13. Galindo Hernández, M. E. (2018). *Obtención y caracterización fitoquímica de extractos vegetales y su evaluación antimicótica para su aplicación en odontopediatría* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
14. Madhu, C. S., Manukumar, H. M., Thribhuvan, K. R., & Bhimangouda, R. P. (2014). Phytochemical, nutritional and mineral constituents of *Illicium verum* Hook (star anise). *World Journal of Pharmaceutical Research*, 3(2), 2888-2896.

15. Singh, P., Mishra, N., & Gupta, E. (2020). Phytochemistry and Ethanopharmacology of *Illicium verum* (Staranise). In *Ethnopharmacological Investigation of Indian Spices* (pp. 93-105). IGI Global.
16. TUN, R. A. S. (2021). *FILOGEOGRAFÍA DE Brosimum alicastrum Sw. EN MÉXICO* (Doctoral dissertation, Centro de Investigación Científica de Yucatán).
17. RAMÍREZ, E. A. C. (2015). *ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DEL RAMÓN (Brosimum alicastrum) EN LOS ESTADOS DE YUCATÁN Y CAMPECHE* (Doctoral dissertation, Instituto tecnológico de Conkal).
18. Rojas-Schroeder, J. Á., Sarmiento-Franco, L., Sandoval-Castro, C. A., & Santos-Ricalde, R. H. (2017). Utilización del follaje de ramón (*Brosimum alicastrum Swarth*) en la alimentación animal. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 20(3), 363-371.
19. Subiría- Cueto CR, Larqué- Saavedra A (2018) Caracterización fisicoquímica, sensorial, y capacidad antioxidante de una tortilla de harina adicionada con *Brosimum alicastrum*. Congreso Internacional de alimentos funcionales y nutraceuticos.
20. Pérez-Pacheco, E., Moo-Huchin, VM, Estrada-León, RJ, Ortiz-Fernández, A., May-Hernández, LH, Ríos-Soberanis, CR y Betancur-Ancona, D. (2014). Aislamiento y caracterización de almidón obtenido de *Brosimum alicastrum Swarts Seeds*. *Polímeros de carbohidratos* , 101 , 920-927.
21. Moo-Huchin, V. M., Góngora-Chi, G. J., Sauri-Duch, E., Canto-Pinto, J. C., Betancur-Ancona, D. y Ramón-Canul, L. G. (2021). Tortilla de maíz adicionado con harina de *Brosimum alicastrum*: propiedades fisicoquímicas y actividad antioxidante. *CIENCIA ergo-sum*, 28(3).
22. del Rocío Martínez-Ruiz, N., Torres, L. E. J., del Hierro-Ochoa, J. C., & Larqué-Saavedra, A. (2019). Bebida adicionada con *Brosimum alicastrum Sw.*: Una alternativa para requerimientos dietarios especiales. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 18(3), 1-10.
23. Moo-Huchin, V. M., Canto-Pinto, J. C., Cuevas-Glory, L. F., Sauri-Duch, E., Pérez-Pacheco, E., & Betancur-Ancona, D. (2019). Effect of extraction solvent on the phenolic compounds content and antioxidant activity of Ramon nut (*Brosimum alicastrum*). *Chemical Papers*, 73(7), 1647-1657.
24. Echegaray J, Echegaray P, Mosquera A, Gerrikaetxebarria J. (2011) Fitoterapia y sus aplicaciones. *Revista Española de Podología*; XXII (6): 258- 267.
25. de Oliveira Mota, I. B., Cunha, L. S., Braga, L. L. A., Lima, C. C., & Dietrich, L. (2018). Fitoterapia na odontologia: levantamento dos principais produtos fitoterápicos usados para a saúde bucal. *Psicologia e Saúde em debate*, 4(Suppl1), 71-71.
26. Francisco, K. S. F. (2010). Fitoterapia: uma opção para o tratamento odontológico. *Revista saúde*, 4(1), 18-24.
27. Rojas A, Jaramillo J, Lemus B. (2015) Métodos analíticos para la determinación de metabolitos secundarios de plantas. 1ª ed. Ecuador: UTMACH.
28. Thomas, L. (2002). Hemolisis Como Influencia Y Factor de Interferencia. *Ejifcc*, 13(4), 107.

29. Mesdaghinia, A., Pourpak, Z., Naddafi, K., Nodehi, RN, Alizadeh, Z., Rezaei, S., ... y Faraji, M. (2019). Un método in vitro para evaluar la hemólisis de glóbulos rojos humanos (RBC) tratados con partículas en suspensión en el aire (PM10). *MethodsX*, 6, 156-161.
30. Kundishora, A., Sithole, S. y Mukanganyama, S. (2020). Determinación del efecto citotóxico de diferentes extractos de hojas de *Parinari curatellifolia* (Chrysobalanaceae). *Revista de toxicología*, 2020, 8831545.
31. Peñalosa, M. M. A. A. 2014. Comisionado Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios COFEPRIS.
32. Kundishora, A., Sithole, S., & Mukanganyama, S. (2020). Determination of the Cytotoxic Effect of Different Leaf Extracts from *Parinari curatellifolia* (Chrysobalanaceae). *Journal of toxicology*, 2020, 8831545.
33. Jonghoon Choi, Vytas Reipa, Victoria M. Hitchins, Peter L. Goering, Richard A. Malinauskas, (2011) Physicochemical Characterization and *In Vitro* Hemolysis Evaluation of Silver Nanoparticles, *Toxicological Sciences*, Volume 123, Issue 1, September, Pages 133–143.
34. Peters, C.M., Pardo-Tejeda, E. *Brosimum alicastrum* (Moraceae): usos y potencial en México. *Econ Bot* 36, 166–175 (1982).
35. Barragán-Mendoza L, Sotelo-García DM, Via LD, Parra-Delgado H. Propiedades biológicas del extracto acuoso y piranocumarinas obtenidas de la corteza del árbol *Brosimum alicastrum*. *J Etnofarmacio*. 2022 mayo 23; 290:115128.
36. Florence Vallelain, Paul W. Buehler, Dominik J. Schaer, Hemolysis, free hemoglobin toxicity and scavenger protein therapeutics, *Blood*, 2022.
37. Zhong H, Yazdanbakhsh K. Hemólisis y regulación inmune. *Curr Opin Hematol*. Mayo de 2018;25(3):177-182.

APÉNDICES.

Apéndice A

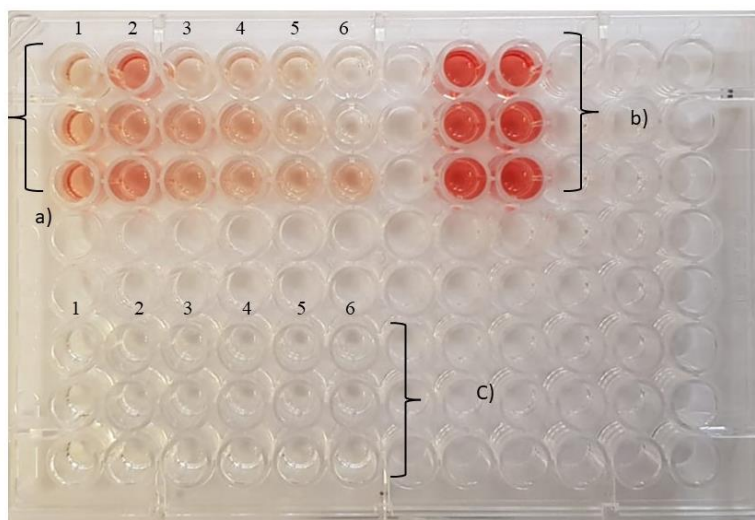


Figura 13.- Microplaca, extracto etanólico de *I. verum*. (Anís estrellado). **a)** Se encuentran ubicados los pozos que contienen **el tratamiento** (contienen el extracto etanólico correspondiente, PBS y paquete globular); En **el grupo 1** se aprecia un subtono rojo en las 3 repeticiones; en el **grupo 2** la primer repetición se aprecia un subtono rojo potente a comparación de las 2 repeticiones subsecuentes; **el grupo 3** se aprecia la primer repetición con un subtono ligeramente tenue a comparación de sus subsecuentes repeticiones; en **el grupo 4** apreciamos se aprecia la primer repetición con un subtono ligeramente tenue a comparación de sus subsecuentes repeticiones; en **el grupo 5** las primeras dos repeticiones tienen un subtono ligeramente tenue a comparación de la última repetición; **el grupo 6** la primer repetición potente a comparación de las repeticiones subsecuentes. **b)** Se ubican los grupos de **control positivo u rojo** (contienen paquete globular y agua destilada). Podemos apreciar en ambas filas cómo se debe interpretar la hemólisis mediante el color rojo intenso que presenta el contenido de los pozos. **c)** Se ubica los grupos del **control blanco u negativo** (contiene PBS y el extracto etanólico correspondiente). En los **grupos 1 y 2, 3, 4, 5, y 6** observamos el contenido de los pozos con apariencia cristalina.

Apéndice B.

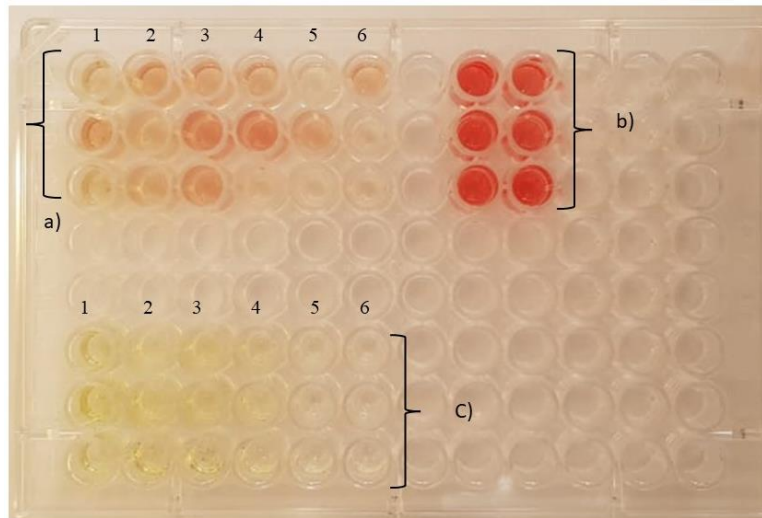


Figura 14.- Microplaca, extracto etanólico de *B. alicastrum*. (Ramon). **a)** Se encuentran ubicados los pozos que contienen **el tratamiento** (contienen el extracto etanólico correspondiente, PBS y paquete globular); En **el grupo 1** en la segunda repetición se aprecia un tono rojo más potente a comparación de la primera y tercera repetición; en el **grupo 2** la primer repetición se aprecia un tono rojo potente a comparación de las 2 repeticiones subsecuentes; **el grupo 3** se aprecia la primer repetición con un subtono ligeramente tenue a comparación de sus subsecuentes repeticiones; en **el grupo 4** apreciamos la segunda repetición con un tono rojo potente a comparación de la primera y tercera repetición que el subtono es tenue; en **el grupo 5** la segunda repetición tiene un tono rojo potente a comparación de la primera y tercera repetición; **el grupo 6** la primer repetición tiene un tono rojo potente a comparación de las repeticiones subsecuentes. **b)** Se ubican los grupos de **control positivo u rojo** (contienen paquete globular y agua destilada). Podemos apreciar en ambas filas cómo se debe interpretar la hemólisis mediante el color rojo intenso que presenta el contenido de los pozos. **c)** Se ubica los grupos del **control blanco u negativo** (contiene PBS y el extracto etanólico correspondiente). En los **grupos 1** se observa que predomina un tono verde característico del color del extracto; en **el grupo 2 y 3** observamos que el tono verde es más tenue que el grupo anterior; **grupo 4** observamos ligeramente más cristalino el contenido del extracto; **grupo 5 y 6** la apariencia del extracto es cristalina.

RESUMEN BIOGRÁFICO.

Tesis: Obtención, caracterización fitoquímica de los extractos vegetales de *Illicium verum* y *Brosimum alicastrum* y su evaluación hemolítica.

Campo de estudio: investigación de campo

Datos Personales: Edgar Israel Galindo Contreras

Educación: Facultad de Odontología de la UANL

Experiencia Profesional:

PUBLICACIONES

PARTICIPACIONES EN CONGRESOS: XII encuentro nacional de cuerpos académicos y grupos de investigación en odontología (CONACAO A.C.) Importancia del uso de herbolaria, como alternativa complementaria en la inflamación.

Centro cultural paso del Norte



El Consejo Nacional de Cuerpos Académicos en Odontología
y la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez
a través del Departamento de Estomatología

otorgan la presente

CONSTANCIA

A: Galindo Contreras Edgar Israel, Elba Guadalupe Rodríguez Pérez, Rosa María Sánchez Casas,
Uziel Castillo Velázquez, Sonia Martha López Villarreal, Laura Elena Villarreal García}, Osvelia
Esmeralda Rodríguez Luis

Por su valiosa participación en Modalidad Cartel con el trabajo titulado:

**IMPORTANCIA DEL USO DE HERBOLARIA, COMO ALTERNATIVA COMPLEMENTARIA EN LA
INFLAMACION.**

En El Concurso de Trabajos de Investigación en el marco del **XII Encuentro Internacional de Cuerpos Académicos y
Grupos de Investigación Odontológica**, Ciudad Juárez, Chihuahua, México, 18,19y20 de marzo de 2020.

Dr. Eduardo Medrano Cortés
Presidente CONACAO

Dr. León Francisco Espinosa Cristóbal
Coordinador General del Evento

SOMOSUACJ