

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE 5 PLANTAS DE NUEVO LEÓN, MÉXICO Y EL

EFFECTO NEFROPROTECTOR DE LA ESPECIE CON MAYOR BIOACTIVIDAD

EN UN MODELO MURINO

POR

MILDRET CORINNA ROMERO DÍAZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

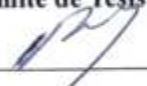
MAESTRÍA EN MANEJO Y APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE RECURSOS

BIÓTICOS


2026

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE 5 PLATAS DE NUEVO LEÓN, MÉXICO Y EL EFECTO NEFROPROTECTOR DE LA ESPECIE CON MAYOR BIOACTIVIDAD EN UN MODELO MURINO


Comité de Tesis



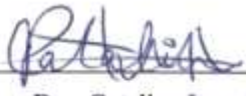
Dra. Catalina Rivas Morales
Presidente



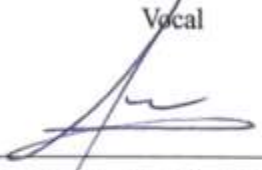
Dr. David Gilberto García Hernández
Secretario




Dr. Marco Antonio Alvarado Vázquez
Vocal



Dra. Catalina Leos Rivas
Vocal



Dr. Sergio A. Galindo Rodríguez
Vocal



Dra. Katuska Arévalo Niño
SUBDIRECCIÓN
DE POSGRADO
Subdirector de Posgrado



ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE 5 PLATAS DE NUEVO LEÓN, MÉXICO Y EL

EFFECTO NEFROPROTECTOR DE LA ESPECIE CON MAYOR BIOACTIVIDAD

EN UN MODELO MURINO

Dirección de Tesis

Dra. Catalina Rivas Morales

Director

Dra. Diana Patricia Moreno Peña

Director externo

AVISO DE DERECHOS DE AUTOR

DERECHOS RESERVADOS©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías por la beca otorgada en el periodo 2024-2025: 65e2a8eca8dd587b8ed018f4 65e2a8eca8dd587b8ed018f4.

A el Laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Y a la Unidad de Hígado de la Facultad de Medicina, UANL por el apoyo para realizar este trabajo.

DEDICATORIA

A la Dra. Catalina Rivas Morales por su apoyo, comprensión y dirección de mi trabajo de investigación.

A la Dra. Diana Patricia Moreno Peña por su amistad, paciencia, enseñanza y dedicación durante toda la duración del protocolo y la tesis.

A mi comité de tesis: Dr. David Gilberto García Hernández, Dr. Marco Antonio Alvarado Vázquez, Dra. Catalina Leos Rivas, Dr. Sergio A. Galindo Rodríguez, por su apoyo y consejos en este trabajo.

A la Dra. Paula Cordero Pérez, Dra. Diana Raquel Rodríguez Rodríguez y a la Dra. Liliana Torres González por brindarme el conocimiento, apoyo y confianza durante mis largas jornadas de trabajo en la Unidad de Hígado.

Al Dr. David Gilberto García por su consejo, guía y orientación en mis experimentos.

Al Dr. Marco Antonio Alvarado Vázquez y Dra. María Magdalena Salinas Rodríguez por su apoyo para identificar las plantas que utilicé en mi tesis.

A Erick Velázquez por ser uno de mis mejores amigos del posgrado y acompañarme en esos viajes locos de colecta junto con Princesa Arvizu.

A todos los chicos de la Unidad de Hígado, Omar, Adrián, Fernanda, Jeidy, Monse, Jazmin, Abril, Samuel por apoyarme y no abandonarme durante esas largas horas de cirugía, y por las pláticas entretenidas durante mis horas en el departamento, los quiero mucho chicos.

A mis amigos de laboratorio de Química Analítica, Merry, Nahomy, Fer, Ale, Santi, César, Jahir por acompañarme durante esta travesía haciendo el trabajo más divertido.

A mi novio Ángel por su compañía, paciencia y comprensión cada vez que tenía que trabajar en mi proyecto, por su trabajo técnico, su amor y escucharme cuando me frustraba en los experimentos, aunque no los entendiera del todo.

A mi mamá María y a mi hermano Alexis por apoyarme siempre en mi decisión de estudiar la maestría y durante la misma.

ÍNDICE GENERAL

Contenido

Página

1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- ANTECEDENTES	3
2.1 Enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo	3
2.2 Enfermedad Renal Crónica	3
2.3 Fármacos para el tratamiento de la enfermedad renal	4
2.4 Trasplante renal	5
2.5 Daño por Isquemia-reperusión	6
2.6 Antioxidantes y sus mecanismos de acción	8
2.7 Métodos para evaluar la actividad antioxidante	9
2.7.1 Método por DPPH	10
2.7.2 Método por ABTS	10
2.8 Plantas con actividad antioxidante y protectora	11
2.9 Métodos de obtención de extractos vegetales	14
2.10 Especies vegetales en estudio provenientes de Nuevo León	15
2.10.1 <i>Arbutus xalapensis</i> (Madroño)	16
2.10.1.1 Taxonomía	16
2.10.2 <i>Acanthocereus tetragonus</i> (Jacube)	17
2.10.2.1 Taxonomía	17
2.10.3 <i>Callaeum macropterum</i> (Bejuco prieto)	18
2.10.3.1 Taxonomía	18
2.10.4 <i>Ebenopsis ebano</i> (Ébano)	20
2.10.4.1 Taxonomía	20
2.10.5 <i>Cucurbita foetidissima</i> (Calabaza silvestre)	21
2.10.5.1 Taxonomía	21
3.- JUSTIFICACIÓN	24
4.- HIPÓTESIS	25

5.- OBJETIVO GENERAL	26
5.1 Objetivos específicos	26
6.-MATERIAL Y MÉTODOS	27
6.1 Obtención de los extractos vegetales	27
6.2 Perfil fitoquímico	28
6.3 Actividad antioxidante por DPPH	30
6.4 Actividad antioxidante por ABTS	32
6.5 Ensayo de toxicidad por Prueba de Hemólisis	34
6.6 Actividad nefroprotectora	37
6.7 Diseño experimental y análisis estadístico	43
7.- RESULTADOS	44
7.1 Obtención de los extractos vegetales	44
7.2 Perfil fitoquímico	44
7.3 Actividad antioxidante por DPPH	45
7.4 Actividad antioxidante por ABTS	46
7.5 Ensayo de toxicidad por Prueba de Hemólisis	47
7.6 Actividad Nefroprotectora	48
8.- DISCUSIÓN	50
9.- CONCLUSIONES	58
10.- PERSPECTIVAS	59
11.- BIBLIOGRAFÍA	60
12.- CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	73

INDICE DE TABLAS

Tabla No	Título	Página
1	Receptores en espera de un trasplante en México	5
2	Plantas con actividad Nefroprotectora	12
3	Solventes comunes en extracción de compuestos	15
4	Concentraciones de los extractos para determinar las IC ₅₀ por DPPH	30
5	Concentración de los extractos para determinar las IC ₅₀ por ABTS	33
6	Concentración de los componentes para determinar la prueba de Hemólisis	35
7	Concentración de los blancos para determinar la prueba de Hemólisis	36
8	Diseño experimental para las pruebas de actividad antioxidante (DPPH y ABTS), citotoxicidad por hemólisis y actividad nefroprotectora	43
9	Rendimiento porcentual de los extractos metanólicos de las plantas en estudio	44
10	Tamizaje fitoquímico cualitativo de 7 extractos metanólicos de 5 plantas de Nuevo León, México	45
11	Valores de Concentración Inhibitoria Media (IC ₅₀), porcentaje de Inhibición y Equivalentes de Trolox (TEAC) por DPPH para cuantificar la actividad antioxidante de 7 extractos metanólicos de 5 plantas de Nuevo León, México	46
12	Valores de Concentración Inhibitoria Media (IC ₅₀), porcentaje de Inhibición y Equivalentes de Trolox (TEAC) por ABTS para cuantificar la actividad antioxidante de 7	47

extractos metanólicos de 5 plantas de Nuevo León,
México

13	Porcentaje de hemólisis a la máxima concentración de trabajo de los 7 extractos metanólicos de 5 plantas de Nuevo León, México	47
----	--	----

INDICE DE FIGURAS

Figura No	Título	Página
1	Trasplantes renales realizados en México del 2007-2025	6
2	Daño por isquemia-reperfusión	7
3	Principales radicales libres producidos por el organismo	8
4	Principales mecanismos de acción antioxidante	9
5	Método por DPPH	10
6	Método por ABTS	11
7	Mapa de Distribución en Nuevo León de <i>A. xalapensis</i>	16
8	Árbol de <i>A. xalapensis</i> (Madroño)	16
9	Mapa de Distribución en Nuevo León de <i>A. tetragonus</i>	17
10	Cactus de <i>A. tetragonus</i> (Jacube)	17
11	Mapa de Distribución en Nuevo León de <i>C. macropterum</i>	19
12	Planta de <i>C. macropterum</i> (Bejuco prieto)	19
13	Mapa de Distribución en Nuevo León de <i>E. ebano</i>	20
14	Árbol de <i>E. ebano</i> (Ébano)	20
15	Mapa de Distribución en Nuevo León de <i>C. foetidissima</i>	22
16	Planta de <i>C. foetidissima</i> (Calabaza silvestre)	22
17	Esquema general de la metodología	27
18	Diagrama general de la metodología por DPPH	32
19	Diagrama general de la metodología por ABTS	46
20	Diagrama de la metodología para la prueba de Hemólisis	36
21	Diagrama de la metodología para la evaluación de la actividad Nefroprotectora	42
22	Marcadores Bioquímicos de daño hepático y renal en suero de ratas Wistar	48
23	Marcadores de Estrés Oxidativo en tejido renal de ratas Wistar	49

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Definición
DPPH	2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo
ABTS	2,2'-Azinobis [3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico]-sal diammonio
ORAC	Capacidad de absorbanza de radicales de oxígeno
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
HTA	Hipertensión arterial
DM2	Diabetes Mellitus 2
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
ERC	Enfermedad Renal Crónica
FG	Filtrado glomerular
IR	Isquemia-reperfusión
IRI	Lesión renal por isquemia de reperfusión
LRA	Lesión renal aguda
ATP	Adenosín trifosfato
IECA	Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina
BRA	Bloqueadores o antagonistas de los receptores de la angiotensina II
SGLT2	Proteínas de transporte sodio-glucosa
BUN	Nitrógeno de la Urea
ALT	Alanina aminotransferasa
AST	Aspartato aminotransferasa
LDH	Lactato Deshidrogenasa
FA	Fosfatasa Alcalina
MDA	Malondialdehído
GSH	Glutación peroxidasa reducido
SOD	Superóxido dismutasa
RT-qPCR	Reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa cuantitativa

TCA	Ácido tricloroacético
RNA	Ácido ribonucleico
GPX	Glutación peroxidasa
MPO	Mieloperoxidasa
NF-k β	Factor de transcripción nuclear kappa beta
EUA	Estados Unidos de América
MeOH	Metanol
EtOH	Etanol
PBS	Buffer fosfato salino
EDTA	Anticoagulante ácido etilendiaminotetraacético
ROS	Especies reactivas del oxígeno
AOX	Antioxidantes

RESUMEN

La insuficiencia renal es uno de los problemas de salud que más aquejan a la población mexicana, debido a su alta incidencia y a los factores que predisponen el desarrollo de esta enfermedad entre los cuales se encuentra como principal etiología la Diabetes Mellitus tipo 2, que a su vez puede presentarse como una complicación derivada de la insuficiencia renal; actualmente, el principal tratamiento para este padecimiento es el trasplante de un nuevo riñón. Siendo que este órgano encabeza la lista de receptores para el año 2025 según la Cenatra, sin embargo, existe una baja tasa de trasplantes renales exitosos debido a la falta de cultura de donación de órganos y primordialmente al rechazo agudo del trasplante causado por el proceso de isquemia-reperfusión, que ocasiona el incremento de especies reactivas de oxígeno desencadenada por la exacerbación de mediadores inflamatorios que desemboca en profundo daño por estrés oxidativo. Los tratamientos actuales no tienen la eficacia para disminuir este daño y provocan efectos secundarios indeseables. Esta problemática lleva a la búsqueda de alternativas naturales de tratamiento seguras y eficaces en la protección renal que garanticen el éxito del trasplante. Gracias a la medicina tradicional y al conocimiento derivado de ello, es posible obtener extractos ricos en metabolitos secundarios con excelente actividad antioxidante que, en estudios anteriores presenta relación con su efecto nefroprotector al disminuir o neutralizar el daño causado por los radicales libres. Se seleccionaron 5 plantas de Nuevo León: *Acanthocereus tetragonus*, *Arbutus xalapensis*, *Cucurbita foetidissima*, *Ebenopsis ebano* y *Callaeum macropterum*, se obtuvieron sus extractos metanólicos para evaluar su potencial antioxidante mediante DPPH y ABTS correlacionado con su perfil fitoquímico cualitativo, y se analizó su actividad tóxica mediante el ensayo de hemólisis. El propósito de las pruebas anteriores fue seleccionar al extracto con mayor potencial antioxidante e inocuidad para determinar su efecto nefroprotector mediante marcadores bioquímicos en suero y marcadores de estrés oxidativo en tejido renal en un modelo de isquemia-reperfusión de rata Wistar.

ABSTRACT

Renal failure is one of the health problems that most affect the Mexican population, due to its high incidence and to the factors that predispose the development of this disease, among which type 2 Diabetes Mellitus stands out as the main etiology, which in turn may appear as a complication derived from renal failure; currently, the main treatment for this condition is the transplant of a new kidney. Since this organ tops the list of recipients for the year 2025 according to CENATRA, however, there is a low rate of successful kidney transplants due to the lack of organ donation culture and primarily to acute transplant rejection caused by the ischemia-reperfusion process, which leads to an increase in reactive oxygen species triggered by the exacerbation of inflammatory mediators that results in profound oxidative stress-induced damage. Current treatments do not have the efficacy to reduce this damage and cause undesirable side effects. This problem leads to the search for natural treatment alternatives that are safe and effective in renal protection to ensure transplant success. Thanks to traditional medicine and the knowledge derived from it, it is possible to obtain extracts rich in secondary metabolites with excellent antioxidant activity that, in previous studies, show a relationship with their nephroprotective effect by decreasing or neutralizing the damage caused by free radicals. Five plants from Nuevo León were selected: *Acanthocereus tetragonus*, *Arbutus xalapensis*, *Cucurbita foetidissima*, *Ebenopsis ebano* and *Callaeum macropterum*, their methanolic extracts were obtained to evaluate their antioxidant potential through DPPH and ABTS correlated with their qualitative phytochemical profile, and their toxic activity was analyzed through the hemolysis assay. The purpose of the previous tests was to select the extract with the greatest antioxidant potential and safety to determine its nephroprotective effect through serum biochemical markers and oxidative stress markers in renal tissue in a Wistar rat ischemia-reperfusion model.

1.- INTRODUCCIÓN

Los antioxidantes se encuentran ampliamente distribuidas en el reino vegetal, estos contribuyen en la prevención y tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas tales como la Enfermedad Renal Crónica (ERC) y la diabetes. En México, la Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) afecta al 14.1% de la población mayor de 20 años y su incidencia se ha incrementado debido a una vida sedentaria y un mayor consumo de alimentos altamente energéticos (Basto-Abreu et al. 2024). La DM2 es la principal etiología de la ERC, la cual es tratada con medicamentos como los IECA (Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina), BRA (Bloqueadores o antagonistas de los receptores de la angiotensina II), bloqueadores beta, estatinas, inhibidores SGLT2 (floenzinas) y la finerenona; los cuales producen efectos secundarios negativos tales como angioedema, disminución de la función renal, daño muscular, hinchazón, hipotensión e hiperpotasemia. El tratamiento empleado en la enfermedad renal crónica terminal es el trasplante de riñón. La desventaja de este tratamiento es la lesión renal derivada por la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno y posterior apoptosis del tejido por el proceso de Isquemia-reperfusión (IR). Esto favorece la función retardada del injerto incrementando la probabilidad de rechazo del órgano, aumenta el tiempo de hospitalización, disminuye de la función renal y baja la supervivencia del injerto renal. Una alternativa de tratamiento y/o coadyuvante es el uso de antioxidantes de origen natural, que impidan o disminuyan la formación de radicales libres evitando el daño celular y rechazo del trasplante.

Desde la antigüedad, en México se ha empleado la medicina tradicional a partir de plantas, sin embargo, solo se han identificado algunos de los compuestos responsables de la actividad biológica, por lo que aún hace falta mucha investigación para garantizar la seguridad y el beneficio a la salud. En la región del Noreste de México hay una gran diversidad de especies vegetales que presentan metabolitos secundarios, con actividad biológica los cuales pueden ser extraídos por diversos métodos con solventes de diferente polaridad.

En este trabajo se utilizaron 5 plantas del Nuevo León: *Arbutus xalapensis* (Madroño), *Acanthocereus tetragonus* (Jacube), *Callaeum macropterum* (Bejuco prieto o Butterfly), *Ebenopsis ebano* (Ébano) y *Cucurbita foetidissima* (calabaza silvestre). En estas plantas

se evaluó la actividad antioxidante de los extractos metanólicos, su efecto citotóxico y el potencial nefroprotector en modelo *in vivo* del extracto de mayor bioactividad.

2.- ANTECEDENTES

2.1 Enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo

En un estado normal de salud, el estrés oxidativo provocado por la presencia de radicales libres en diversos órganos es contrarrestado por mecanismos enzimáticos y no enzimáticos en el cuerpo humano. Cuando ocurre un desbalance en la cantidad de radicales libres y el cuerpo no es capaz de combatirlo, se producen enfermedades y procesos degenerativos como la diabetes, la enfermedad renal aguda y crónica, cáncer, envejecimiento, hipertensión arterial (HTA), aterosclerosis, demencia senil, insuficiencia cardíaca, enfisema pulmonar, cirrosis, entre otros (Biobarica Medical Hyperbaric Solutions 2018). En México, la DM2 afecta al 18.4 % de la población mayor de 20 años y su incidencia aumenta cada vez más debido a cambios en los hábitos de las personas, tales como, una vida sedentaria, una alimentación deficiente en nutrientes y un alto consumo de alimentos ricos en grasas y calorías (Basto-Abreu et al. 2024).

La elevada prevalencia de DM2, asociada a una mayor sobrevida en la población general, predispone el desarrollo de la diabetes y sus complicaciones tanto en jóvenes como en adultos, entre estas complicaciones se destaca la nefropatía. El riesgo relativo de padecer insuficiencia renal siendo un paciente diabético es 25 veces más alto que en personas no diabéticas, es por esta razón que se ha considerado como la principal etiología de la ERC. La HTA y la glomerulonefritis crónica son otras causas de la ERC (Verner 2010).

2.2 Enfermedad Renal Crónica

La ERC se define como la disminución de la función renal, expresada por un filtrado glomerular (FG) $< 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ o también como la presencia de daño renal persistente ≥ 3 meses. Es importante destacar la relación directa de la ERC con la DM2 siendo causa o consecuencia de esta por lo que incrementa la preocupación de tratar estas enfermedades (Verner 2010).

Los casos de ERC cada vez son más altos y al 2025 representan una incidencia del 12% que equivale a 13 millones de personas (Romero 2025), aunque los casos pueden ser más debido a que no se suelen detectar a tiempo en fases tempranas y es una de las principales causas de muerte en México; por esta razón se ha convertido en un padecimiento que debe

ser tratado a la brevedad. Para recuperar la función renal perdida, los pacientes son sometidos a tres opciones de tratamiento:

- Hemodiálisis
- Diálisis peritoneal
- Trasplante de riñón

Siendo el trasplante de riñón la opción más efectiva de tratamiento para la enfermedad renal crónica o terminal (Hernández y Caballero 2023).

2.3 Fármacos para el tratamiento de la enfermedad renal

Entre los tratamientos más utilizados para la enfermedad renal se encuentran:

- Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA): Captopril y Enalapril.
- Bloqueadores o antagonistas de los receptores de la angiotensina II (BRA): Losartán.
- Bloqueadores beta: Carvedilol, Propanolol, Atenolol, Metoprolol y Bisoprolol.
- Estatinas: Rosuvastatina, Atorvastatina, Lovastatina, Pravastatina y Simvastatina.
- Inhibidores del SGLT2 (floenzinas): Invokana (canagliflozina), Farxiga (dapagliflozina), Jardiance (empagliflozina) y Steglatro (ertugliflozina).
- Finerenona (antagonista de los receptores de mineralocorticoides no esteroideos): Kerendia.

Estos medicamentos se basan en el tratamiento indirecto de la enfermedad; los primeros 3 medicamentos actúan reduciendo la presión arterial, a su vez, los IECA y los BRA retardan el daño renal tanto en personas que padecen de hipertensión como en las que no la padecen, mientras que las estatinas funcionan reduciendo únicamente el colesterol (Díaz 2000; Eisenberg 2012). Los inhibidores del SGLT2 evitan la reabsorción renal de la glucosa en pacientes diabéticos y protegen la función renal en la fase de enfermedad renal temprana. La finerenona previene la fibrosis renal y reduce el riesgo de deterioro de la función renal (AKF's Medical Advisory Committee 2024; National Kidney Foundation Inc 2023). A pesar de los beneficios terapéuticos de estos medicamentos existen desventajas que hay que mencionar; según la FDA, los IECA y los BRA pueden ocasionar efectos secundarios como angioedema, aumento del potasio sanguíneo y deterioro de la

función renal si se combina con medicamentos antiinflamatorios no esteroideos. Los bloqueadores beta causan cansancio, malestar estomacal, dolor de cabeza, mareos o sensación de desmayo, estreñimiento, diarrea, entre otros. Por su parte, las estatinas pueden ocasionar dolor muscular y articular, náuseas, estreñimiento, diarrea, daño muscular y daño al hígado (National Kidney Foundation Inc 2023, 2024). Los inhibidores del SGLT2 pueden causar hipotensión e hiperpotasemia (AKF's Medical Advisory Committee 2024; National Kidney Foundation Inc 2023). Entre los efectos secundarios más importantes de estos medicamentos se encuentran, poliuria, dolor en el área pélvica o en la espalda, sensación de cansancio, debilidad, fiebre, sensibilidad, enrojecimiento e hinchazón en genitales, piernas o pies (National Kidney Foundation Inc 2023, 2024).

2.4 Trasplante renal

Actualmente en México existe una tasa elevada de receptores en espera de un órgano para trasplante (Tabla 1), de un total de 19,171 receptores en espera, el 86 % (16,489 casos) corresponden a un trasplante renal (CENATRA 2025).

Tabla 1.- Receptores en espera de un trasplante en México.

Receptores en espera de un trasplante	Órgano a trasplantar
16489	Riñón
2414	Cornea
229	Hígado
19	Corazón
9	Hígado-riñón
6	Páncreas
2	Riñón-páncreas
1	Corazón-riñón
1	Pulmón
1	Corazón-pulmón

En base a los reportes de la Cenatra del 2007 al 2025 (Figura 1) se ha registrado un aumento en trasplantes renales debido a la alta incidencia que tiene la enfermedad renal en nuestro país aunado a los elevados factores que predisponen el desarrollo de la enfermedad, lamentablemente a partir del 2020 se ha observado una importante disminución de trasplantes de riñón debido a que la tasa de donación de órganos es menor por factores como la pandemia de COVID 19, falta de cultura de donación y a la baja tasa de éxito del trasplante debido al rechazo agudo del órgano por parte del receptor (CENATRA 2025).

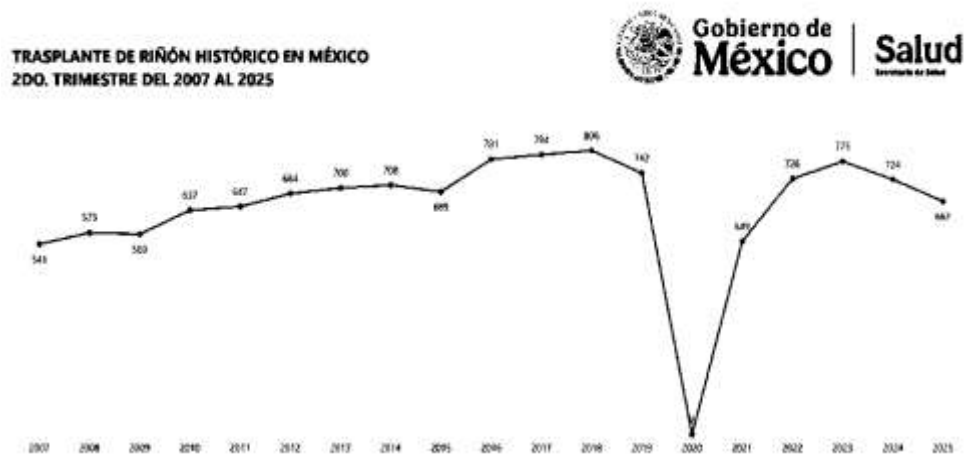


Figura 1.- Trasplantes renales realizados en México del 2007-2025. (CENATRA 2025).

2.5 Daño por Isquemia-reperfusión

El fenómeno de isquemia-reperfusión (Figura 2) es un tipo de lesión que se presenta en múltiples órganos como el corazón, riñón y cerebro, y se produce durante el trasplante del órgano de manera inevitable. El proceso de IR consiste en inducir la isquemia del tejido al restringir el suministro de sangre a un órgano por un periodo prolongado de tiempo, posteriormente, se lleva a cabo la reperfusión con sangre oxigenada, como consecuencia ocurre un aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS) que genera daño oxidativo, lesiones al órgano trasplantado e inflamación; la suma de estos efectos puede ocasionar una función retardada del injerto o el rechazo agudo del mismo (Malek y Nematbakhsh 2015). La IR es una causa frecuente de lesión renal aguda (LRA) en los pacientes renales y esta atribuida a la intervención de neutrófilos y especies reactivas de oxígeno debido a

la exacerbación de la respuesta inflamatoria (Zhang et al. 2024). Al momento de interrumpir el flujo sanguíneo durante la isquemia, el oxígeno deja de estar disponible para el tejido afectado ocasionando su hipoxia, a nivel celular ocurre la alteración de la cadena respiratoria disminuyendo la cantidad de enzimas mitocondriales que puedan seguir llevando a cabo la fosforilación oxidativa, lo que reduce la síntesis de adenosín trifosfatos (ATP) (Gulec 2011). La reducción del ATP implica la inhibición del ATP-asa $\text{Na}^+\text{-K}^+$, así como la alteración del transporte de iones a través de la membrana provocando de esta manera un aumento de sodio intracelular que se traduce a un efecto de edema y muerte celular; por otro lado, la concentración de calcio citosólico se incrementa de manera anormal activando fosfolipasas que actúan degradando fosfolípidos de la propia membrana lo que implica el desarrollo de la lesión isquémica. Finalmente, al realizar la reperfusión del tejido con sangre oxigenada, el calcio intracelular que ya se encontraba aumentado favorece la producción excesiva de especies reactivas del oxígeno además de desencadenar la producción de cantidades excesivas de radicales libres mediante la activación de la xantina oxidorreductasa (Gulec 2011), por otro lado, la aparición masiva de neutrófilos debido al proceso inflamatorio también participa en la producción de los radicales libres, teniendo como resultado final la apoptosis o necrosis celular. Este proceso ocurre simultáneamente en el resto del tejido renal, razón por la cual se presenta una función retardada del injerto, un rechazo agudo del órgano o la disminución de la supervivencia del injerto renal a largo plazo (Casillas-Ramírez et al. 2013).

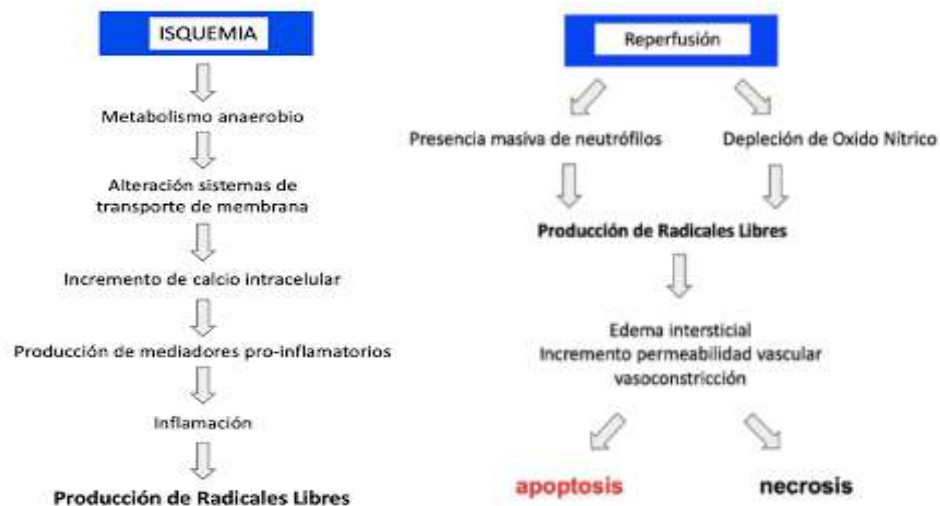


Figura 2.- Daño por isquemia-reperfusión. (Casillas-Ramírez et al. 2013).

2.6 Antioxidantes y sus mecanismos de acción

Los antioxidantes (AOX) son moléculas que se encuentran ampliamente distribuidas en el reino vegetal y tienen la capacidad de remover o impedir la formación de ROS que conllevan al daño celular. Estas moléculas ejercen su efecto sobre sistemas bioquímicos favoreciendo la prevención y tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas como la diabetes, enfermedad renal, enfermedades circulatorias, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurológicas, enfermedades cancerígenas, entre otras (Huerta 2020; Ruiz 2020).

Los principales ROS (Figura 3) que generan el daño celular son el superóxido, el hidroxilo, el alcoxi, el peroxi, el carbonato, el óxido y el dióxido nítricos. El cuerpo humano tiene mecanismos naturales de defensa antioxidante contra los ROS para mantener el equilibrio entre la producción-metabolismo de estas moléculas y de esta manera evitar o limitar el daño celular (Huerta 2020); estos se dividen en enzimáticos: superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasa., o no enzimáticos: nutrientes y oligoelementos como las vitaminas C y E, zinc, betacaroteno, glutatión, fenoles y flavonoides (Mirończuk-Chodakowska et al. 2018).

RADICALES LIBRES	
SUPERÓXIDO	$O_2^{\cdot-}$
HIDROXILO	HO^{\cdot}
ALCOXI	RO^{\cdot}
PEROXI	ROO^{\cdot}
CARBONATO	$CO_3^{\cdot-}$
OXIDO NÍTRICO	NO^{\cdot}
DIOXIDO NÍTRICO	NO_2^{\cdot}

Figura 3.- Principales radicales libres producidos por el organismo (Huerta 2020).

Los mecanismos de acción de los AOX (Figura 4) se llevan a cabo mediante diversas estrategias para contrarrestar el daño oxidativo. Entre ellas se incluyen el atrapamiento directo de ROS, la inducción de enzimas encargadas de su eliminación, la activación de enzimas que sintetizan antioxidantes endógenos, así como la inhibición de enzimas productoras de ROS y de aquellas vías de formación de ROS dependientes de metales (Huerta 2020).

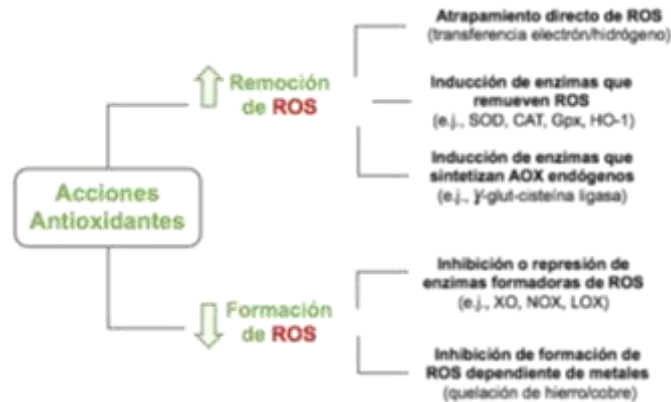


Figura 4.- Principales mecanismos de acción antioxidante (Huerta 2020).

2.7 Métodos para evaluar la actividad antioxidante

Existen diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante de una variedad de muestras. Estos métodos se clasifican en métodos directos e indirectos, en ambos se emplea un reactivo conocido como radical. Los métodos directos se clasifican a su vez en ensayos de post-adición y de inhibición; para el primero, el radical va a producir una señal utilizada como un factor de cuantificación la cual va a aumentar o disminuir al adicionarle la muestra dependiendo de su capacidad antioxidante, mientras que en los segundos, primero se prepara la mezcla de la muestra con los sustratos antes de generar el radical, por lo que la reacción da comienzo al agregar el agente oxidante que puede ser DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazina) o ABTS (Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etiltiazolina-bencenosulfónico-6). En el caso de los métodos indirectos, se va a producir un aumento o disminución de la señal cuantificable al encontrarse presentes los radicales libres debido a la producción o disminución de un reactivo; ejemplos de estos métodos son ORAC (capacidad de absorción de radicales de oxígeno) y FRAP (Capacidad de reducción del

hierro). En ese trabajo nos enfocaremos en los métodos directos DPPH y ABTS para el desarrollo experimental (Leos-Rivas et al. 2016).

2.7.1 Método por DPPH

En este método (Figura 5), se utiliza el radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazina que presenta un color violeta intenso en solución con metanol antes de la reacción con el compuesto antioxidante. La solución de DPPH reacciona con el sustrato o muestra antioxidante aceptando un electrón o átomo de hidrogeno por molécula, llevándose a cabo la reducción del radical libre que a nivel visual provoca el cambio de color de la solución de violeta a amarillo, este cambio indicará la capacidad antioxidante de la muestra analizada que será cuantificada por espectrofotometría a una longitud de onda de 517 nm (Ruiz 2020).

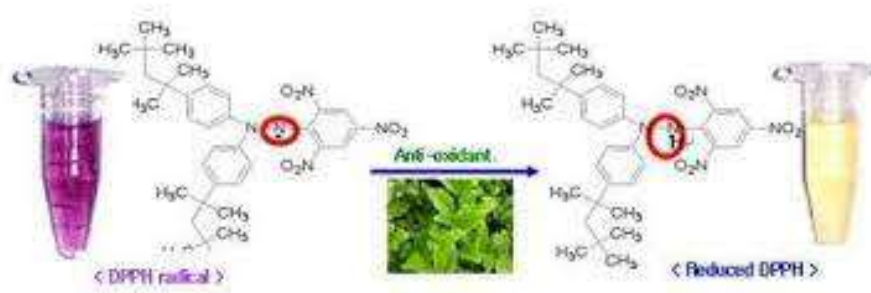


Figura 5.- Método por DPPH. (Ruiz 2020).

2.7.2 Método por ABTS

En este método (Figura 6) se emplea el radical ABTS que presenta un intenso color verde-azul antes de efectuarse la reacción con la molécula antioxidante. Cuando se lleva a cabo la reacción de reducción del radical ABTS con los compuestos antioxidantes de la muestra se produce una disminución de color a un tono de menor intensidad, lo que nos indicará el potencial antioxidante de la muestra. La variación de tonalidad es cuantificable mediante espectrofotometría UV-Vis a 734 nm. Este método es una excelente opción de cuantificación debido a que permite evaluar una amplia variedad de compuestos antioxidantes obtenidos a partir de extractos vegetales y muestras biológicas gracias a sus características de solubilidad polar y apolar idóneas para el estudio de antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos; además permite disminuir interferencias en compuestos coloreados (Ruiz 2020).

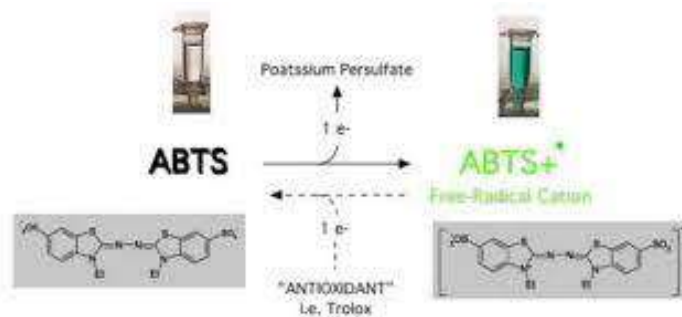


Figura 6.- Método por ABTS (Ruiz 2020).

2.8 Plantas con actividad antioxidante y protectora

En México, el uso ancestral de las plantas medicinales ha sentado las bases para el desarrollo del conocimiento empírico a través de la medicina tradicional. Se utilizan las diferentes partes de la planta, según sea la afección en cuestión; lo más común en orden de importancia son las hojas, las flores y esporádicamente, el tallo o la raíz. De manera general, se realizan preparaciones de las partes de las plantas seleccionadas en infusiones, pastas de aplicación tópica o en presentaciones homeopáticas. Estos remedios medicinales se emplean en una gran variedad de dosis y presentaciones a pesar de que en la mayoría de los casos se desconoce el o los principios activos relacionados con los efectos benéficos que se les atribuyen. Es importante mencionar que existen especies vegetales que, además de contener sustancias responsables del efecto benéfico pueden contener sustancias con propiedades tóxicas que implican un posible riesgo o efecto negativo en la salud, lo que sugiere la necesidad de precaución al consumir estas plantas, especialmente aquellas que no han sido suficientemente investigadas. Por todo esto, es crucial continuar con una caracterización química detallada de las numerosas especies empleadas en la medicina tradicional, ya que esta tarea aún está lejos de ser completada (Guzmán et al. 2017). Debido a la alta incidencia de enfermedades crónico-degenerativa como la ERC, considerados como problemas de salud pública a nivel mundial, es necesario buscar alternativas para su prevención y tratamiento basado en la medicina herbolaria (Verner 2010).

En la Tabla 2 se muestran algunas plantas con potencial antioxidante y estudios *in vivo* asociados a la actividad nefroprotectora.

Tabla 2.- Plantas con actividad **Nefroprotectora**

Nombre de la planta	Modelo utilizado	Hallazgos más importantes	Referencia
<i>Mucuna pruriens</i>	-Modelo murino de estrés oxidativo inducido por dieta alta en grasas en rata Wistar macho.	-Aumento de valores de glutatión reducido, glutatión peroxidasa, SOD y catalasa.	Satheesh et al. 2011
<i>Diospyros lotus</i>	-Modelo murino de daño inducido por gentamicina en ratones NMRI.	-Actividad antioxidante: DPPH (IC50 13.30±0.50 mg/mL). -Actividad nefroprotectora: Disminución de valores de BUN y creatinina.	Hajizadeh et al. 2012
<i>Rosa canina</i>	-Modelo murino de IR en rata Sprague-Dawley.	-Actividad nefroprotectora: Disminución de valores de urea y creatinina en suero. Disminución de MDA y FRAP en tejido renal.	Changizi Ashtiyani et al. 2013
<i>Dennettia tripetala</i>	-Modelo murino de daño por tetracloruro de carbono en rata Wistar macho.	-Actividad hepatoprotectora: Disminución de valores de ALT, AST y fosfatasa alcalina. -Actividad nefroprotectora: Normalización de valores de proteínas y globulina. Reducción de valores de MDA, SOD, catalasa, urea y creatinina.	Iseghohi y Orhue 2017
<i>Lycium europaeum</i>	-Modelo murino de daño hepatorenal inducido por cisplatino en	-Actividad antioxidante: eliminación de DPPH (CE ₅₀ de	Rjeibi et al. 2018

	ratones macho Swiss.	23.02 µg/mL) y eliminación de H ₂ O ₂ (28.83 µg/mL). -Actividad nefroprotectora: Normalización de valores de BUN, creatinina, urea y ácido úrico. Disminución de marcadores SOD, glutatión peroxidasa y catalasa.	
<i>Juglans mollis</i>	-Modelo murino de IR en rata Wistar.	-Actividad nefroprotectora: Disminución de valores de creatinina y MDA. Aumento de valores de SOD.	Pérez-Meseguer et al. 2019
<i>Sonchus oleraceus</i>	-Modelo murino de IR en rata Wistar.	-Actividad nefroprotectora: Disminución de valores de BUN, creatinina, MDA y citocinas proinflamatorias IL-6, IL-1β y TNF-α.	Torres-González et al. 2018
<i>Opuntia ficus indica</i>	-Modelo murino de daño inducido por cisplatino en ratones Balb-c.	-Actividad antioxidante: ABTS (IC ₅₀ de 2.46±0.04 mg/mL). -Actividad nefroprotectora: Reducción de niveles séricos de BUN y creatinina. Normalización de túbulos y glomérulos en histología.	Okur et al. 2020
<i>Flourensia cernua</i>	-Modelo murino de IR en rata Wistar.	-Actividad antioxidante: DPPH (368 nM TEAC/100g). -Actividad nefroprotectora: disminución de valores de creatinina y MDA. Aumento de valores de SOD.	Andrade-Ordaz 2023

Jatropha dioica

-Modelo murino
de IR en rata
Wistar.

-Actividad
nefroprotectora:
Disminución de
valores de
creatinina, BUN y
MDA. Aumento de
valores de SOD.
Disminución de
daño por necrosis
tubular medular.

Rodríguez-
Rodríguez et al.
2025

2.9 Métodos de obtención de extractos vegetales

En investigación de productos naturales, se utilizan diversos métodos para extraer los compuestos activos de las plantas, como: maceración, infusión, decocción, percolación y extracción Soxhlet (Díaz-Villagómez et al. 2023).

Para optimizar el proceso de extracción se toman en cuenta factores como: la temperatura, el tamaño de partícula y la porosidad, las impurezas, la agitación, la capacidad de disolución y la cantidad de solvente. En lo referente al solvente se buscan características de baja toxicidad, fácil evaporación y afinidad por los compuestos de interés en base a su composición química (Díaz-Villagómez et al. 2023).

La maceración en frío es un método de extracción sólido-líquido que se utiliza para obtener compuestos termolábiles. Para llevarlo a cabo se debe triturar el material vegetal seco, posteriormente se adiciona el solvente de elección y se deja reposar al menos 3 d para garantizar una extracción total, también es posible seguir agregando solvente para realizar varias extracciones sobre el material vegetal inicial hasta extraer todos los compuestos presentes en la planta (Díaz-Villagómez et al. 2023).

En fitoquímica se suele utilizar la regla de solubilidad que indica que lo similar disuelve lo similar, aplicado a la extracción de material vegetal permite obtener compuestos con características de polaridad similar de tal manera que los solventes no polares como el hexano y el diclorometano extraen metabolitos no polares; mientras que los polares como el metanol, etanol y agua extraen metabolitos polares. En la Tabla 3 se muestran los solventes más utilizados en orden de polaridad creciente (Zhang et al. 2018).

Tabla 3.- Solvente comunes en extracción de compuestos

Solvente	Polaridad
n-Hexano	0.009
Éter de petróleo	0.117
Éter dietílico	0.117
Acetato de etilo	0.228
Cloroformo	0.259
Diclorometano	0.309
Acetona	0.355
n-butanol	0.586
Etanol	0.654
Metanol	0.762
Agua	1.000

2.10 Especies vegetales en estudio provenientes del Nuevo León, México

2.10.1 *Arbutus xalapensis* Kunth (Madroño)

2.10.1.1 Taxonomía

Reino: Plantae

Filo: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Ericales

Familia: Ericaceae

Género: *Arbutus*

Especie: *Arbutus xalapensis* Kunth

Este árbol) comúnmente conocido como Madroño puede llegar a medir hasta 15 m de altura, presenta un tronco irregular erecto o inclinado y rojizo, así como hojas perennes con una corteza densa en capas rojizas y una copa redondeada (8)

Se distribuye desde Nuevo México (EUA) hasta Centroamérica. Esta especie se puede encontrar en casi todos los estados de México excepto Quintana Roo, Tabasco, Yucatán y Campeche (Revivemx 2003). En Nuevo León se localiza en los municipios de Potrero

Redondo, Santiago, Galeana y puerto de Cienaguillas, Rayones, Montemorelos, Linares, Iturbide y Zaragoza (Galán 2020), como se muestra en la Figura 7.



Figura 7.- Mapa de Distribución en Nuevo León de *A. xalapensis* (Revivemx 2003).



Figura 8.- Árbol de *A. xalapensis* Kunth (Madroño) (Revivemx 2003).

Tradicionalmente se utilizan las ramas de *A. xalapensis* Kunth para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales, circulatorias y cardiovasculares (Dimayuga et al. 1998). En 2002, Zamora-Martínez y Torres-Rojo reportaron la presencia de taninos en la corteza de *A. xalapensis* Kunth que se utiliza en la industria de curtiembre (Zamora-Martínez y Torres-Rojo 2002). También se ha reportado la presencia de taninos condensados y galatos de catequina en el género *Arbutus spp.* (Pérez-Narváez et al. 2019). En otro estudio reportaron el tamizaje fitoquímico para esta especie y encontraron la presencia de esteroides, sesquiterpenlactonas, carbohidratos, taninos, cumarinas y quinonas, así como la ausencia de triterpenos, alcaloides, flavonoides y saponinas en un extracto etanólico de hoja. Por otro lado, obtuvieron triterpenos, sesquiterpenlactonas, carbohidratos, taninos, flavonoides, cumarinas y quinonas para el extracto etanólico de tallo (Pérez-Narváez 2018).

Se ha documentado la actividad antimicrobiana del extracto metanólico crudo de la corteza de *A. xalapensis* Kunth contra *Staphylococcus aureus*, y del extracto etanólico contra *S. aureus*, *Bacillus subtilis* y *C. albicans*. Además, existen reportes respecto a una gran capacidad antioxidante de extractos etanólicos de hojas y tallos frente al radical DPPH y ABTS (Pérez-Narváez et al. 2018, 2019).

2.10.2 *Acanthocereus tetragonus* (L.) Hummelinck (Jacube)

2.10.2.1 Taxonomía

Reino: Plantae

Filo: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Caryophyllales

Familia: Cactaceae

Género: *Acanthocereus*

Especie: *Acanthocereus tetragonus*

A. tetragonus (L.) Hummelinck (Figura 9 y 10), también conocido como cactus triángulo o Jacube, es una especie de cactus originaria de América Central y del Sur. Se caracteriza por crecer en tallos triangulares o en cruceta que presentan espinas afiladas en forma de agujas (Figura 10).

En Nuevo León se encuentra distribuida en las áreas del Cerro del Obispado, Anáhuac, Bustamante, Lampazos de naranjo, Mina, Sabinas Hidalgo y Villa dama (Estrada-Castillón et al. 2017).

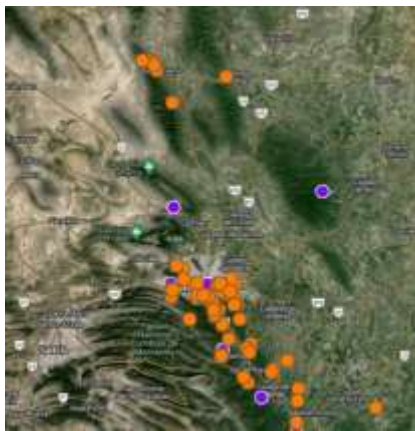


Figura 9.- Mapa de Distribución en Nuevo León de *A. tetragonus* (Estrada-Castillón et al. 2017).



Figura 10.- Cactus de *A. tetragonus* (Jacube). (Estrada-Castillón et al. 2017).

En general, el Jacube es ampliamente utilizado como planta ornamental debido a su agradable forma visual y a la facilidad de su crecimiento. En algunas regiones se utiliza como fuente de alimento. En la medicina tradicional se suele utilizar en el tratamiento de dolencias, problemas digestivos, problemas de la piel y síndromes metabólicos. Existen

reportes del uso de las hojas crudas o cocidas de este cactus en el municipio de Bustamante Nuevo León para el tratamiento de la diabetes (Estrada-Castillón et al. 2017).

Se ha reportado la presencia de metabolitos secundarios del tipo alcaloides, fenoles, flavonoides y betalaínas en varias especies de cactus; tal es el caso de *Opuntia spp.* que contine flavonoides como la quercetina y el kaempferol (Tesoriere et al. 2004; Sharma y Modi 2023). Para esta planta se ha reportado un perfil fitoquímico donde se obtuvieron pruebas positivas que indicaban la presencia de la presencia de carbohidratos, fenoles, flavonoides, saponinas y terpenoides en extractos hidrometanólicos; mientras que para extractos de acetato de etilo reportaron alcaloides, carbohidratos, fenoles y flavonoides (Sharma y Modi 2023). En la literatura solamente existe un reporte donde se demuestra que la planta presenta actividad antioxidante en el extracto hidrometanólico y de acetato de etilo en pruebas de DPPH y FRAP (Sharma y Modi 2023).

2.10.3 *Callaeum macropterum* (Moc. & Sessé ex DC.) D.M.Johnson (Bejuco prieto)

2.10.3.1 Taxonomía

Reino: Plantae

Filo: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Malpighiales

Familia: Malpighiaceae

Género: *Mascagnia*

Especie: *Mascagnia macróptera*

C. macropterum o *M. macróptera* (Figura 11 y 12) es conocida por varios nombres dependiendo de la región en la que se encuentre: bejuco prieto, doncella amarilla, gallinita, globito y butterfly Vine. Esta planta crece como una enredadera de hojas perennes que trepa y se entrelaza con otras plantas, posee tallos y hojas de color verde oscuro. Las flores se agrupan en racimos y son de color amarillo con forma de orquídea de 5 pétalos y se producen a finales de la primavera. Los frutos crecen con una particular forma de mariposas de color verde a marrón lo que le da el nombre de "Butterfly Vine" (San Marcos Growers n.d.; UNAM 2009).

C. macropterum (Moc. & Sessé ex DC.) D.M.Johnson crece en condiciones generales de matorral submontano de la Sierra de Picacho y a lo largo de la Sierra Madre Oriental, en

Nuevo León se distribuye en los municipios de Linares e Iturbide (González 2015; USF 1978).

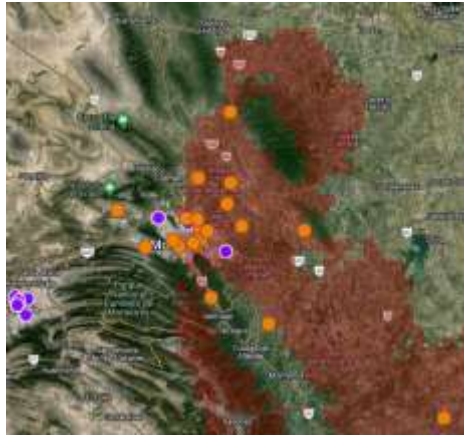


Figura 11.- Mapa de Distribución en Nuevo León de *C. macropterum* (San Marcos Growers n.d).



Figura 12.- Planta de *C. macropterum* (Bejuco prieto) (San Marcos Growers n.d).

En la medicina tradicional la administración de esta planta está recomendada para tratar resfriados, amigdalitis, dolor de cintura, debilidad, diarrea, afecciones de la piel como lavado de llagas, contusiones y heridas, además, puede actuar como abortivo (UNAM 2009). Un uso específico para el reumatismo y magulladuras consiste en realizar la decocción de la raíz y con el líquido resultante aplicarla en baños a los pacientes; también, la planta puede ser mezclada con ceniza y ser sometida a decocción para dejarla precipitar administrarse bebida o en baños para tratar la ictericia (UNAM 2009).

Únicamente existen reportes de tamizaje fitoquímico para un extracto etanólico de hojas de la especie *Mascagnia macrodena* de la misma familia que la planta en cuestión. En esta prueba demostraron la presencia de metabolitos secundarios como taninos y alcaloides (Pérez et al. 2014).

En otro estudio demostraron la actividad antioxidante de la planta mediante el ensayo por DPPH para un extracto hidroetanólico de *C. macropterum* (Moc. & Sessé ex DC.) D.M.Johnson (Osorio et al. 2016). También se ha reportado la actividad antibacteriana de esta planta contra enteropatógenos para el extracto hexánico y el extracto etanólico contra *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*; así como el efecto antifúngico contra *Candida*

albicans. En ningún trabajo mencionan la parte de la planta empleada (Moreno et al. 2008; UNAM 2009).

2.10.4 *Ebenopsis ebano* (Berland.) Barneby & J.W. Grimes (Ébano)

2.10.4.1 Taxonomía

Reino: Plantae
Filo: Magnoliophyta
Clase: Eudicotyledoneae
Orden: Fabales
Familia: Fabaceae
Género: *Ebenopsis*
Especie: *Ebenopsis ebano*

El árbol de ébano (Figura 13 y 14) puede llegar a medir hasta 15 m de altura en condiciones favorables en su edad adulta, su tronco es recto y puede medir hasta 80 cm de diámetro, su color característico es pardo oscuro con ramas gruesas y ascendentes; posee espinas de color gris claro y hojas ovales de color verde. Los frutos tienen forma de vaina leñosa con 6-12 semillas globosas conocidas como mahuacata. Las flores de este árbol son pequeños racimos de color crema o amarillo. **Figura 14** (Gracia-Vásquez 2008; Morales-Salvatierra et al. 2020).

Esta planta nativa del noreste de México se encuentra principalmente en poblaciones rurales de Nuevo León, Coahuila y Tamaulipas.

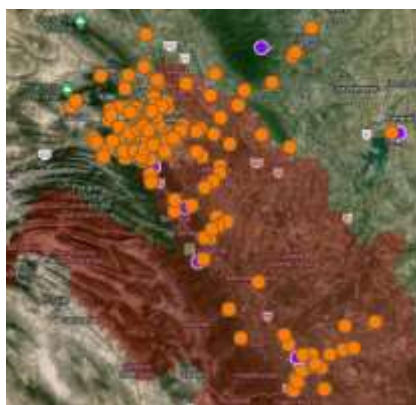


Figura 13.- Mapa de Distribución en Nuevo León de *E. ebano*. (Gracia-Vásquez 2008).



Figura 14.- Árbol de *E. ebano* (Ébano) (Gracia-Vásquez 2008).

En varias comunidades se aprovecha el fruto como alimento debido a sus características nutritivas, este fruto es comestible en diferentes estados de madurez; ya sean semillas tiernas y cocidas, o maduras y tostadas (Gracia-Vásquez 2008; Morales-Salvatierra et al. 2020).

En un estudio realizaron el perfil fitoquímico preliminar de extractos metanólicos y hexánicos de la madera de *E. ebano* (Berland.) Barneby & J.W. Grimes, y encontraron presencia de insaturaciones, fenoles, esteroides/terpenos, carbohidratos, cumarinas, sesquiterpenlactonas, flavonoides y taninos para el primer extracto, además de fenoles, carbohidratos, sesquiterpenlactonas y flavonoides para el segundo extracto (Valades 2005). En otro estudio cuantificaron fenoles y flavonoides en extractos acuosos de corteza de *E. ebano* y encontraron una alta concentración de flavonoides para este tipo de extracto (Carrillo et al. 2012). En cuanto a los extractos metanólicos de la semilla de esta especie, se ha reportado la presencia de compuestos derivados del ácido gálico, la quercetina y el ácido cafeico (Gracia-Vásquez 2008). Por otro lado, se ha reportado un alto contenido de moléculas antioxidantes en extractos metanólicos, metanol:agua y etanol de vainas y semillas de *E. ebano* (Berland.) Barneby & J.W. Grimes (Morales-Salvatierra et al. 2020). También se ha demostrado que los extractos acuosos y metanólicos de la semilla tierna de *E. ebano* (Berland.) Barneby & J.W. Grimes poseen actividad antimicrobiana contra *E. coli* y *Salmonella* spp; así como actividad antioxidante. evaluado por el método DPPH. Estos extractos han sido evaluados en ensayos de citotoxicidad de la línea celular tumoral L5178Y-R, en linfocitos de timo y bazo, y en macrófagos peritoneales de ratón *in vitro* donde encontraron que los extractos acuosos inhiben el crecimiento de las células tumorales contra células sanas de timo y bazo mientras que los extractos metanólicos inhiben el crecimiento de los macrófagos evitando la producción de óxido nítrico (Gracia-Vásquez 2008).

2.10.5 *Cucurbita foetidissima* Kunth (Calabaza silvestre)

2.10.5.1 Taxonomía

Reino: Plantae
Filo: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida

Orden: Cucurbitales

Familia: Cucurbitaceae

Género: *Cucurbita*

Especie: *Cucurbita foetidissima*

C. foetidissima Kunth (Figura 15 y 16), es una especie distribuida en áreas rurales, de naturaleza tuberosa y es considerada como una planta xerófila. Coloquialmente se le conoce como calabacilla loca o calabaza silvestre. Las hojas son ásperas, gruesas y triangulares de color verde-grisáceo. Los frutos son pequeños de color verde con rayas amarillentas, Figura 16 (Rangel et al. 2018).

Esta planta es originaria de praderas y desiertos en el suroeste de los Estados Unidos y el norte de México. Su distribución en México es amplia y abarca los estados de Aguascalientes, Baja California, Chihuahua, Coahuila, Colima, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Veracruz y Zacatecas (Rangel et al. 2018).

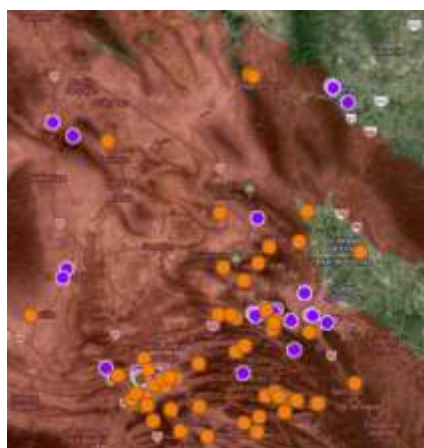


Figura 15.- Mapa de Distribución en Nuevo León de *C. foetidissima*. (Rangel et al. 2018).



Figura 16.- Planta de *C. foetidissima* (Calabaza silvestre) (Rangel et al. 2018).

La importancia nutrimental e industrial de esta planta radica en el alto contenido de aceites y proteínas en las semillas y en el alto contenido de almidones en la raíz. A pesar de su potencial importancia, en México existen pocos trabajos relacionados a esta especie (Rangel et al. 2018).

Esta planta se ha utilizado tradicionalmente contra el dolor de cabeza, la “solitaria”, ardor de orina, afecciones hepáticas, en el parto, flegmon, erisipela y dolor en los riñones.

Como actividad biológica, existen reportes de la presencia de fenoles y flavonoides en semillas de *Cucurbita spp.*, una especie de la misma familia (Valenzuela et al. 2014). En otro estudio determinaron la composición fitoquímica de las especies *C. moschata*, *C. pepo* y *C. máxima*, donde se demuestra la presencia de carbohidratos, alto contenido de carotenoides y fenoles en frutos; tocoferoles en las semillas; y flavonoides como el kaempferol en brotes y tallos (Salehi et al. 2019). Para *C. foetidissima* Kunth, se han reportado triterpenoides como las cucurbitacinas, esteroles en semillas; y una saponina triterpenoide llamada foetidissimosido A en las raíces (Salehi et al. 2019).

El extracto etanólico obtenido de la raíz ejerce una acción antiesquistosoma al ser aplicado directamente sobre *Schistosoma mansoni*; además, se realizaron ensayos *in vivo* donde se observa que, al ser aplicado sobre la parte externa de la piel de ratones, presenta una ligera inhibición de la penetración de *S. mansoni* (UNAM 2009).

En 2018, Rangel y colaboradores encontraron que el extracto metanólico de frutos presenta actividad antimicótica contra *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora capsici* y *Botrytis sp* (Rangel et al. 2018). Por otro lado, los extractos acuosos, metanólicos, de acetona y acetato de etilo de semillas de las especies *Cucurbita moschata*, *Cucurbita máxima* y *Cucurbita mixta* muestran una gran actividad antioxidante por el método DPPH (Valenzuela et al. 2014).

3.- JUSTIFICACIÓN

La Enfermedad Renal Crónica presenta una alta incidencia a nivel mundial que sigue en aumento a causa de otras etiologías, principalmente la Diabetes Mellitus tipo 2. Esta relación directa entre ambas enfermedades genera una creciente demanda de tratamientos efectivos, siendo el trasplante renal el principal recurso terapéutico, a pesar de la baja tasa de donación de órganos. Sin embargo, el trasplante renal conlleva un alto índice de complicaciones, entre ellas el rechazo del injerto, asociado principalmente al daño por isquemia-reperfusión (IR). En este contexto, se ha propuesto el uso de compuestos antioxidantes como una alternativa prometedora para reparar el daño causado por IR en diversos órganos. Diversas plantas con potencial antioxidante han sido evaluadas, demostrando efectos nefroprotectores sin ocasionar efectos secundarios. Por lo tanto, el presente trabajo se pretende evaluar la actividad antioxidante y citotoxicidad de cinco plantas de Nuevo León, México, para continuar con el estudio del efecto nefroprotector del extracto de la planta con mayor actividad antioxidante frente al daño por IR en un modelo *in vivo* de rata Wistar.

4.- HIPÓTESIS

El extracto con mayor actividad antioxidante y baja citotoxicidad presenta un efecto nefroprotector en un modelo murino de isquemia-reperfusión.

5.- OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antioxidante y citotóxica de los extractos de 5 plantas del Nuevo León, México y el efecto nefroprotector de la especie con mayor bioactividad en un modelo murino.

5.1 Objetivos específicos

- Determinar el rendimiento de los extractos metanólicos de las 5 plantas: *Arbutus xalapensis*, *Acanthocereus tetragonus*, *Callaeum macropterum*, *Ebenopsis ebano* y *Cucurbita foetidissima*.
- Realizar el tamizaje fitoquímico de los extractos obtenidos de las plantas en estudio.
- Determinar la actividad antioxidante de los extractos obtenidos *in vitro* por los métodos de DPPH y ABTS.
- Evaluar la citotoxicidad de los extractos de las plantas en estudio por el ensayo de hemólisis.
- Evaluar la actividad nefroprotectora del extracto de mayor bioactividad con un modelo murino *in vivo* de isquemia-reperfusión.

6.- MATERIAL Y MÉTODOS

En la Figura 17 se muestra un esquema general de la metodología utilizada en la tesis.

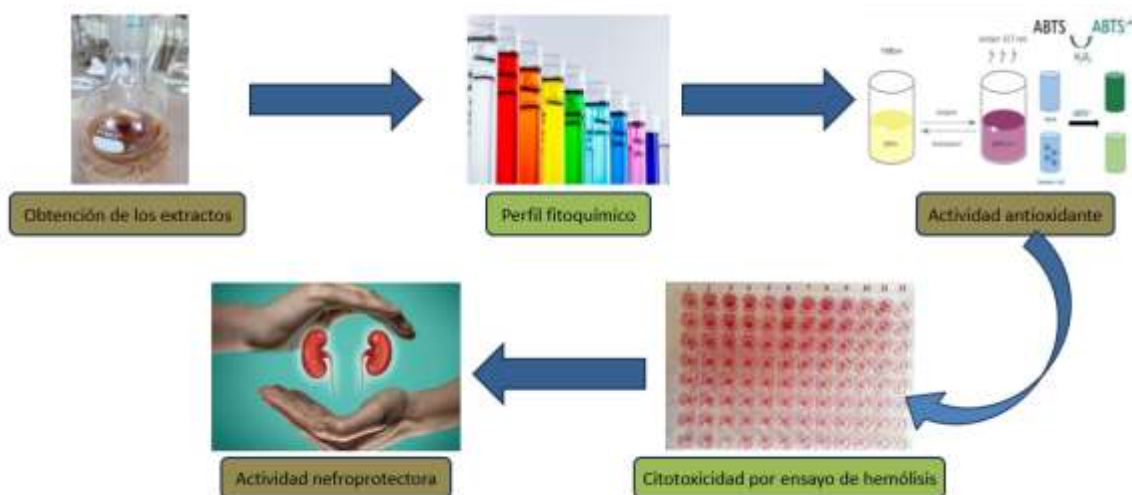


Figura 17.-Esquema general de la metodología. Diseño propio creado en BioRender.

6.1 Obtención de los extractos vegetales

El material vegetal se colectó en regiones de Nuevo León y todas las muestras fueron depositadas en el herbario de la FCB de la UANL de la siguiente manera:

- Corteza y hojas de *Ebenopsis ebano* (Voucher 25610) en el Parque Natural la Peñita en el municipio de San Nicolás de los Garza, NL (Coordenadas: 25°44'30"N 100°18'08"O).
- Tallos de *Acanthocereus tetragonus* (Voucher 25611) en la calle principal Las raíces en el municipio de Montemorelos, NL (Coordenadas: 25°11'13.99" N, 99°49'36.01" W).
- Hojas de *Callaeum macropterum* (Voucher 25609) en el cerro de la Silla, NL (Coordenadas: 25°37'40" N, 100°14'20.59" W).
- Tallos y hojas de *Cucurbita foetidissima* (Voucher 25612) a orillas de la carretera Heriberto Castillo Martínez, kilómetro 120, ruta 65 en el municipio de García, NL (Coordenadas: 25°49'00"N 100°35'00"O).

- Hojas de *Arbutus xalapensis* (Voucher 25613) en la Brecha las Moras del Parque Ecológico Chipinque, NL (Coordenadas: 100°18' y 100°24' de longitud oeste y 25°33' y 25°35' de latitud norte).

El material vegetal se secó en una estufa a 37°C, posteriormente se molió cada parte de las plantas y se realizó la extracción por maceración con Metanol (MeOH) con agitación por 7 d. Después se realizó una separación del extracto por filtración y se concentró cada extracto a presión reducida en un rotavapor. Los extractos de hoja de *E. ebano* y tallo de *A. tetragonus* fueron sometidos a una separación líquido-líquido con hexano:metanol 1:1 para eliminar las ceras y mejorar la solubilidad, de este modo, se desechó la fase hexánica y se recuperó la fase metanólica para ser evaporada en rotavapor. Finalmente, se colocaron los extractos en frascos ámbar y se llevaron a sequedad en estufa a 37°C (Díaz et al. 2023).

6.2 Perfil fitoquímico

Se realizaron las siguientes pruebas cualitativas para la detección de metabolitos primarios en los extractos obtenidos según la técnica utilizada por García-Hernández (2009):

- Prueba de Liebermann Buchard para Esteroles y Triterpenos:
Se mezcló 1 mL de anhídrido acético con un 1 mL de cloroformo y 4 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Se agregó 1 gota de esta mezcla a 1-2 mg de la muestra disuelta en metanol. La prueba fue positiva para esteroles si se desarrollaba una coloración azul o morado y para triterpenos si se desarrollaba una coloración rojiza.
- Prueba de Cumarinas:
Se disolvieron 1-2 mg de la muestra en hidróxido de sodio al 10%, si se desarrollaba una coloración amarilla que desaparecía al acidular, la prueba sería positiva.
- Prueba para Quinonas con H₂SO₄:
Se añadieron 1 o 2 gotas de ácido sulfúrico a 1-2 mg de muestra y si la prueba era positiva se tornaría de color rojo. Esto se confirmó añadiendo 2-3 gotas de hidrosulfito de sodio al 5% para decolorar la solución y añadiendo 2-3 gotas de agua oxigenada al 30% para regenerar su color.

- Prueba de Baljet para Sesquiterpenlactonas:

Se prepararon 2 soluciones: La solución A con ácido pícrico al 1% en etanol y la solución B con NaOH al 10% en agua. Se agregaron 3-4 gotas de la solución mezcla a 3-4 mg de la muestra, siendo positivo si se desarrollaba una coloración anaranjada o rojo oscuro.

- Saponinas:

Se colocaron 1-2 mg de la muestra en 1 mL de agua y se sacudió vigorosamente por 30 s. La prueba fue positiva si se formaba una espuma abundante persistente.

- Prueba de Shinoda para Flavonoides:

Se disolvieron 1-2 mg de muestra en 1 mL de etanol, se agregaron 1-2 limaduras de magnesio y unas gotas de ácido clorhídrico concentrado. La prueba era positiva si se tornaba de color rojo intenso (otros colores como naranja, verde o azul indicaron presencia de flavonas, flavononas, flavonoles, flavononoles o xantonas).

- Prueba de Antrona para Carbohidratos:

Se disolvieron 1-2 mg de la muestra en agua y se le agregaron por las paredes unas gotas de Antrona al 0.2% en ácido sulfúrico concentrado. La prueba fue positiva si formaba un anillo azul-verdoso o violeta en la interfaz.

- Prueba de Cloruro Férrico para Taninos:

Se disolvieron 1-2 mg de la muestra en etanol y se le agregaron unas gotas de FeCl_3 al 1% en etanol. Si se observaba una coloración roja o azul la prueba se consideraba positiva.

- Prueba de Dragendorff para Alcaloides:

Se prepararon 2 soluciones: para la solución A se disolvieron 0.85 g de Subnitrito de Bismuto en una mezcla de ácido acético glacial y 40 mL de agua destilada, para la solución B se disolvieron 8 g de Yoduro de Potasio en 20 mL de agua destilada. Se

mezclaron 5 mL de cada solución (A y B) con 20 mL de ácido acético glacial y se aforaron a 100 mL con agua destilada.

Se colocó una pequeña cantidad de la muestra disuelta en etanol en una placa cromatográfica con 1-2 gotas de la mezcla preparada y se eluyó con cloroformo:etanol en proporción 7:3. Si se observaba un precipitado anaranjado que persistía 24 h, la prueba se consideró positiva.

6.3 Actividad antioxidante por DPPH

Esta prueba se realizó con modificaciones a la técnica de Leos-Rivas et al. (2016).

Se prepararon las soluciones de los reactivos en oscuridad y se colocaron en recipientes ámbar para su conservación.

Preparación del reactivo DPPH:

- Solución madre 1.3 mM de DPPH: Se pesaron 12.8 mg del reactivo DPPH, se disolvieron en MeOH al 100% y se aforó la solución a 25 mL.
- Solución diluida de DPPH al 0.13 mM: Se tomaron 2.5 mL de la solución madre y se aforó a 25 mL con MeOH al 100%.

La preparación de la curva de calibración para cada extracto se representa en la Tabla 4.

Tabla 4.- Concentraciones de los extractos para determinar las IC₅₀ por DPPH.

Extracto	Concentración (µg/mL)
Hoja de <i>A. xalapensis</i>	1-20
Corteza de <i>E. ebano</i>	1-20
Hoja de <i>E. ebano</i>	10-100
Tallo de <i>A. tetragonus</i>	10-100
Hoja de <i>C. macropterum</i>	10-100
Tallo de <i>C. foetidissima</i>	10-100
Hoja de <i>C. foetidissima</i>	3-40

Todos los puntos de la curva se disolvieron con MeOH al 100% en un volumen final de 1 mL.

Preparación de la Curva de calibración de Trolox:

- Solución Madre de Trolox: Se pesaron 62.5 mg de Trolox, se disolvieron en MeOH al 100% y se aforó la solución a 25 mL.
- Concentraciones de Trolox para la curva de calibración: Se prepararon diluciones de la solución Madre de Trolox a 0-59 μM .

Preparación de las concentraciones de Ácido ascórbico para el control positivo:

- Ácido ascórbico a 1-25 $\mu\text{g/mL}$: Se pesó el ácido ascórbico y se disolvió en 1 mL de agua destilada para cada punto de la curva.

Preparación de los tubos para la reacción y lectura en celda en espectrofotómetro:

- Reacción en tubo: Se colocaron 100 μL de la muestra (extracto, soluciones de la curva, blancos o control positivo) con 600 μL de DPPH 0.13 mM (se realizó por triplicado).
- Lectura en celda: Se colocaron las reacciones en celda para su lectura a 517 nm al tiempo 0, se dejó incubando en oscuridad, posteriormente se tomó la lectura a los 30 min.

Cálculo del porcentaje de inhibición y equivalentes de Trolox (TEAC):

- Cálculo del porcentaje de inhibición: Para este cálculo se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición DPPH} = \frac{A_{\text{blanco}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{blanco}}} * 100$$

- Cálculo de los Equivalentes de Trolox (TEAC): Se obtuvo una ecuación de la recta:

$$Y = mx + b$$

Los datos de porcentaje de inhibición de cada extracto se analizaron mediante el programa PROBIT para la obtención del IC_{50} .

En la Figura 18 se representa el diagrama general de la metodología de DPPH.



Figura 18.- Diagrama general de la metodología por DPPH. Diseño propio creado en BioRender.

6.4 Actividad antioxidante por ABTS

Esta prueba se realizó con modificaciones a la técnica de Leos-Rivas et al. (2016).

Se prepararon las soluciones de los reactivos en oscuridad y se colocaron en recipientes ámbar para su conservación.

Preparación del reactivo ABTS:

- Solución madre de ABTS a 7mM activada con Persulfato de potasio a 2.45 mM: Se pesaron 180 mg del reactivo ABTS y 33.11 mg de persulfato de potasio, se disolvieron en agua destilada y se aforó la solución a 50 mL.
- Solución diluida de ABTS: Se diluyó una parte de la solución madre con etanol (EtOH) hasta alcanzar una absorbancia de 0.70 ± 0.02 a 734 nm.

En la Tabla se muestran las concentraciones para la preparación de la curva de calibración para cada extracto.

Tabla 5.- Concentración de los extractos para determinar las IC₅₀ por ABTS.

Extracto	Concentración (µg/mL)
Hoja de <i>A. xalapensis</i>	1-9.9
Corteza de <i>E. ebano</i>	1-9.9
Hoja de <i>E. ebano</i>	1-9.9
Tallo de <i>A. tetragonus</i>	1-9.9
Hoja de <i>C. macropterum</i>	1-9.9
Tallo de <i>C. foetidissima</i>	1-9.9
Hoja de <i>C. foetidissima</i>	1-9.9

Se pesó el extracto para cada concentración de la curva y se disolvió en un volumen final de 1 mL de EtOH al 100%.

Preparación de la Curva de calibración y control positivo de Trolox:

- Solución Madre de Trolox 2.5 mM: Se pesaron 15.6 mg de Trolox, se disolvieron en EtOH al 100% y se aforó la solución a 25 mL.
- Concentraciones la curva de calibración: Se prepararon diluciones de la solución Madre del Trolox a 0-24.75 µM.

Preparación de las celdas para lectura en espectrofotómetro:

- Reacción en celda: Se colocaron 10 µL de la muestra (extracto, soluciones de la curva, blancos o control positivo) con 1 mL de ABTS 7 mM (este procedimiento se realizó por triplicado).
- Lectura en celda: Se leyeron las celdas a 734 nm y se tomó la lectura a los minutos 1, 4 y 6.

Cálculo del porcentaje de inhibición y equivalentes de Trolox (TEAC):

- Cálculo del porcentaje de inhibición: Para este cálculo se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición ABTS} = \frac{A \text{ blanco} - A \text{ muestra}}{A \text{ blanco}} * 100$$

- Cálculo de los Equivalentes de Trolox (TEAC): Se obtuvo una ecuación de la recta:

$$Y = mx + b$$

Los datos de porcentaje de inhibición de cada extracto se analizaron mediante el programa PROBIT para la obtención del IC₅₀.

En la Figura 19 se representa el diagrama general de la metodología de ABTS.

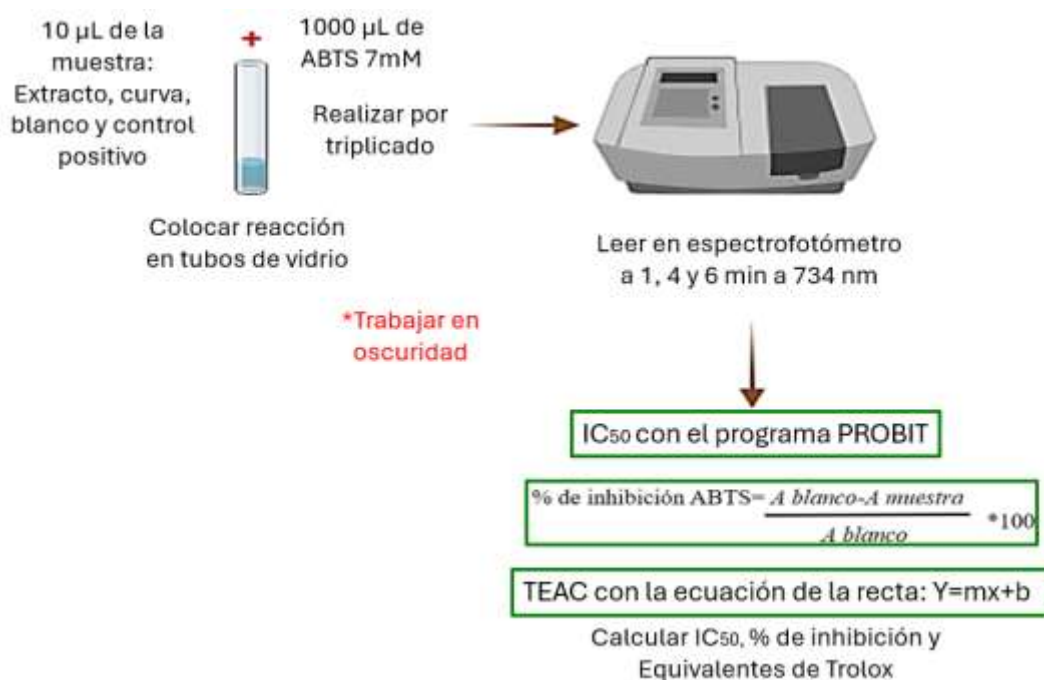


Figura 19.-Diagram general de la metodología de ABTS. Diseño propio creado en BioRender.

6.5 Ensayo de toxicidad por Prueba de Hemólisis

Esta prueba se realizó con modificaciones a la técnica de Ruiz (2020).

Preparación del Buffer fosfato salino PBS:

- Se pesaron 8 g de Cloruro de Sodio, 0.2 g de Cloruro de Potasio, 1.44 g de Fosfato de Sodio Dibásico y 0.245 g de Fosfato de Potasio Monobásico. Se disolvieron los reactivos en 1,000 mL de agua destilada y se ajustó el pH a 7.4; finalmente la solución se esterilizó y se filtró.

Preparación de la muestra:

- Se pesó 1 mg de cada extracto y se disolvió en 1 mL de MeOH.

Preparación del paquete globular:

- Se obtuvo sangre O positivo en tubos con EDTA por punción venosa.
- Se centrifugaron los tubos de sangre 5 min y se lavó el paquete globular 3-4 veces con PBS centrifugando 5 min a 3,000 rpm.
- Se preparó una solución del paquete globular al 5%, para esto se tomaron 5 mL del paquete globular lavado y se aforó a 100 mL con PBS.

En la Tabla 6 se encuentra la preparación de la curva de concentraciones para cada extracto:

Tabla 6.- Concentraciones de los componentes para determinar la prueba de Hemólisis.

Concentración (ppm)	Componentes		
	Extracto (µL)	PBS (µL)	Paquete globular (µL)
250	312.5	687.5	250
200	250	750	250
150	187.5	812.5	250
100	125	875	250
50	62.5	937.5	250
1	1.25	998.75	250

- Una vez preparados, se incubaron por 30 min y se centrifugaron 5 min a 13,000 rpm a 4°C.

En la Tabla 7 se muestra la preparación de los blancos a diferentes concentraciones de cada extracto.

Tabla 7.- Concentración de los blancos para la prueba de Hemólisis.

Concentración (ppm)	Componentes	
	Extracto (μL)	PBS (μL)
250	312.5	937.5
200	250	1,000
150	187.5	1,062.5
100	125	1,125
50	62.5	1,187.5
1	1.25	1,248.75

- Una vez preparados, se incubaron por 30 min y se centrifugaron por 5 min a 13,000 rpm a 4°C.

Preparación del control positivo:

- Se prepararon 6 tubos con 1000 μL de agua destilada y 250 μL de paquete globular.
- Una vez preparados, se incubaron por 30 min y se centrifugaron 5 min a 13,000 rpm a 4°C.

Preparación de la microplaca:

- Se colocaron en cada pocillo 200 μL del sobrenadante de cada tubo centrifugado y se leyó la absorbancia a 550 nm.

En la Figura 20 se representa el diagrama de la metodología para el ensayo de hemólisis de cada extracto.



Figura 20.- Diagrama de la metodología para la prueba de Hemólisis. Diseño propio creado en BioRender.

6.6 Actividad nefroprotectora

Se llevó a cabo el estudio en el modelo *in vivo* (Comité de Bioética Proyecto HI26-00001) con modificaciones a la técnica de Andrade-Ordaz (2023).

Población de estudio:

Se emplearon 24 ratas Wistar con peso de 220 a 300 g divididas en 4 grupos (n=6), se asignaron aleatoriamente 3 hembras y 3 machos para cada grupo.

Durante todo el periodo de estudio los animales se mantuvieron en condiciones estándar de laboratorio, con agua y alimento *ad libitum* bajo condiciones controladas de luz y oscuridad de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

Grupos de estudio:

- Grupo control sin daño (SHAM), al cual se le administró por vía orogástrica 1 mL de solución TWEEN 20 al 1% cada 24 h por 7 d por 7 d y se sometió a laparotomía sin realizar isquemia renal.
- Grupo de No toxicidad (NO TOX), al cual se le administró de forma orogástrica una dosis de 200 mg/Kg el extracto metanólico de *A. xalapensis* Kunth en un volumen máximo de aplicación de 1 mL cada 24 h por un periodo de 7 d d y se sometió a laparotomía sin realizar isquemia renal.
- Grupo control de daño de isquemia renal (IR), al cual se le administró por vía orogástrica 1 mL de solución TWEEN 20 al 1% cada 24 h por 7 d y se sometió a laparotomía para realizar isquemia en ambos riñones por 60 min con reperusión de 15 h.
- Grupo de tratamiento con isquemia renal (IR + Extracto), al cual se le administró de forma orogástrica una dosis de 200 mg/Kg del extracto metanólico de *A. xalapensis* Kunth en un volumen máximo de aplicación de 1 mL cada 24 h por un período de 7 d,, luego se sometió a laparotomía para llevar a cabo isquemia renal en ambos riñones por 60 min con reperusión de 15 h.

Después del periodo de tratamiento correspondiente a cada grupo, los animales fueron anestesiados con ketamina (Anesket, PiSA Agropecuaria, S.A. de CV, México) 100 mg/kg y xilacina (Sedaject, Vedilab S.A. de CV, México) 10 mg/kg vía intraperitoneal, para lo cual se sujetaron a los animales para exponer el área abdominal e introducir la aguja con un ángulo de 30°, ligeramente a la izquierda de la línea media del ombligo, en el punto medio de la sínfisis pubiana y el apéndice xifoides del esternón, se administró el volumen correspondiente y se vigiló que los animales no presentaran signos de molestia o dolor.

El monitoreo de la adecuada anestesia antes y durante el procedimiento consistió en la observación de los siguientes parámetros:

- Patrón respiratorio: Observación visual de los movimientos torácicos para asegurar una respiración profunda y rítmica.
- Color de las mucosas: Inspección visual de la mucosa oral y anal, buscando un color rosado que indique oxigenación adecuada.
- Tiempo de llenado capilar: Medición rápida, presionando la cola o extremidades y observando el retorno del color que debe ser <2 s.
- Temperatura corporal: Medición con termómetros rectales, la cual no debe ser menor de 36°C.
- Estado ocular: Ausencia de reflejos oculares y pupilar.
- Reflejos: Ausencia del reflejo de retirada podal al pellizcar la pata/cola.

En caso de que algunos de los parámetros anteriores demostraran que los sujetos no se encontraban en estado de anestesia profunda, se procedía a administrar una nueva dosis.

Después de asegurar la anestesia profunda del animal, se procedió a rasurar su abdomen y desinfectar el área de la piel con MICRODACYN 60 para realizar una incisión en el abdomen y tener acceso a dicha cavidad.

A los grupos NO TOX y SHAM únicamente se les realizó la laparoscopia que consistió en la abertura de la cavidad abdominal con la finalidad de simular el daño muscular que ocurre durante el procedimiento de isquemia reperusión. Después de 60 min (la duración del proceso de isquemia en los otros grupos) se suturó la cavidad abdominal. Los animales

se colocaron en una jaula con aserrín nuevo (no más de 3 animales por jaula) para su recuperación durante 15 h con administración oral de Tramadol 50 mg/L como analgésico y se llevó a cabo el monitoreo constante del dolor durante ese periodo.

Para los grupos IR e IR + Extracto, se practicó la misma incisión abdominal con la finalidad de localizar ambas arterias renales (derecha e izquierda), se dejó el área libre de tejido adiposo y se procedió a realizar la isquemia mediante la oclusión de las arterias con clamp vascular durante 60 min; una vez transcurrido este tiempo, se retiraron los clamps para permitir la reperfusión renal y se suturó la cavidad abdominal. Se dejaron a los animales en recuperación en una jaula con aserrín nuevo durante 15 h con administración de analgésico Tramadol 50 mg/L y monitoreo constante en caso de dolor.

Después del periodo de 15 h de reperfusión se volvieron a someter a los animales a anestesia profunda verificando nuevamente los parámetros antes descritos. Una vez anestesiados, se eliminaron las suturas para acceder nuevamente a la cavidad abdominal donde se realizó la toma de muestra sanguínea de la aorta abdominal en un volumen de aproximado de 6 mL (eutanasia por exanguinación); posterior a eso, se realizó la extirpación de ambos riñones que se dividieron longitudinalmente para su conservación y almacenamiento en criotubos a -80°C para su análisis. Se aseguró la eutanasia el animal mediante dislocación cervical.

Finalmente, las muestras de sangre se centrifugaron 12 min a 3,500 rpm para separar el suero y se evaluaron los marcadores bioquímicos: creatinina, nitrógeno ureico en sangre (BUN), alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) en suero., así como los marcadores de estrés oxidativo; malondialdehído y superóxido dismutasa en el tejido renal.

Criterios de inclusión, exclusión y eliminación:

Criterios de inclusión:

- Ratas Wistar sanas.
- Peso entre 250 y 300 g.

Criterios de exclusión:

- Edad mayor a 6 meses.

Criterios de eliminación:

- Muerte durante el procedimiento.
- Desarrollo de enfermedades infecciosas.
- Presencia de algún defecto morfológico renal.

Determinaciones analíticas:

Determinación de marcadores bioquímicos:

- Las muestras de suero se analizaron en el equipo ILab Aries (Instrumentation Laboratory, Werfen Company), para evaluar los siguientes marcadores bioquímicos: AST, ALT, creatinina y nitrógeno ureico en sangre (BUN).

Determinación de marcadores de estrés oxidativo:

- Homogenizado de los tejidos: Se realizó un homogenizado de tejido renal antes de realizar las determinaciones de MDA y SOD siguiendo lo descrito por los kits de trabajo. A 200 mg de tejido renal se le añadió 1 mL de buffer y se homogenizó el tejido con ayuda de una varilla de vidrio en un baño de hielo. Después se centrifugó a 4,000 rpm por 10 min a 4° C, se traspasó el sobrenadante a otro microtubo y se centrifugó al menos 3 veces más, descartando la materia orgánica.
- Cuantificación de MDA: Esta determinación se realizó con un kit de CAYMACHEM. Se llevó a cabo por el método del ácido tiobarbitúrico que

reaccionó con el MDA formando un aducto en medio ácido y caliente., el producto de la reacción se midió por densidad óptica a 535 nm (Cayman 2024).

- Cuantificación de SOD: La determinación de la actividad enzimática de SOD se llevó a cabo por el método de inhibición de los aniones superóxido generados por la xantina oxidasa y la reducción de tetrazolio a formazán empleando un kit de SIGMA aldrich. La SOD disminuyó la velocidad de reducción del tetrazolio y se cuantificó a una densidad óptica de 450 nm (Merck KGaA 2022).

En la figura 21 se presenta el diagrama de la metodología utilizada para evaluar la actividad nefroprotectora en el modelo murino de IR.

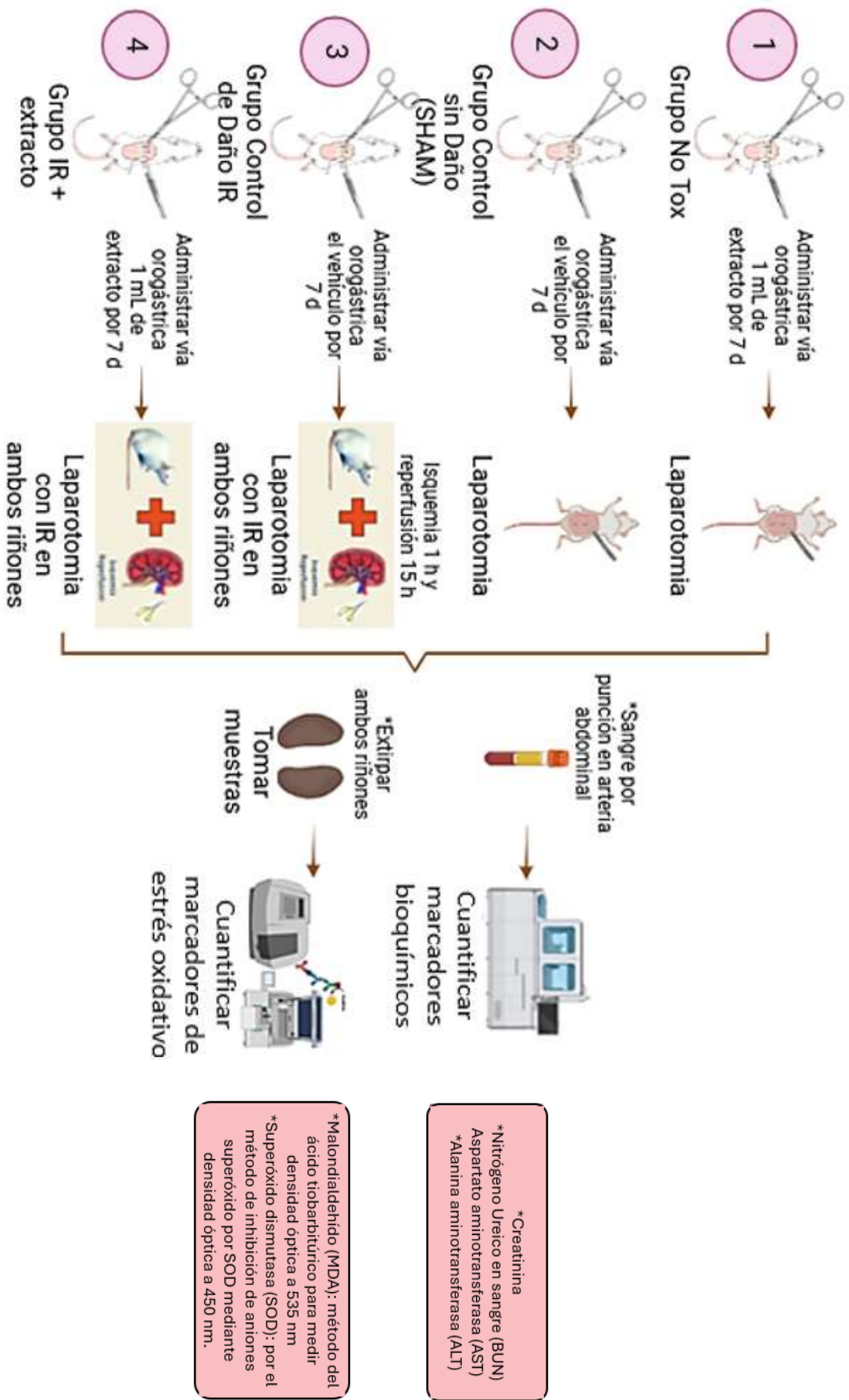


Figura 21.-Diagrama de la metodología para la evaluación de la actividad Nefroprotectora en modelo de Isquemia-reperfusion en rata Wistar. Diseño propio creado en BioRender.

6.7 Diseño experimental y análisis estadístico

Para fines de esta tesis se realizó un diseño experimental aleatorio donde se evaluó la actividad antioxidante de 7 extractos de 5 plantas por triplicado; así como la actividad hemolítica y nefroprotectora del extracto con mejor capacidad antioxidante. Se llevó a cabo el análisis de los datos utilizando la prueba de Shapiro-Wilk para verificar que se distribuyeran de manera normal.. La comparación de medias y desviaciones estándar se llevó a cabo mediante pruebas estadísticas paramétricas con ANOVA simple seguido de una prueba Post-Hoc de Tukey-Kramer utilizando un valor de significancia de $p \leq 0.05$ empleando los programas OpenStat.Ink y GraphPad Prism 10.

En la Tabla 8 se representa el modelo experimental para cada una de las pruebas realizadas a los extractos.

Tabla 8.- Diseño experimental para las pruebas de actividad antioxidante (DPPH y ABTS), citotoxicidad por hemólisis y actividad nefroprotectora.

Ensayo	Tratamientos	Prueba estadística
Actividad antioxidante por DPPH y ABTS	Tratamiento: 7 extractos con 3 repeticiones.	Si los datos se distribuyen de manera normal: ANOVA seguida de una prueba Post-hoc con Tukey.
Citotoxicidad por Hemólisis	Tratamiento: 7 extractos con 3 repeticiones.	
Actividad Nefroprotectora	Tratamientos en 4 grupos (7 d) 1-Vehículo + laparotomía; 2-Vehículo con I-R + laparotomía; 3-Extracto + laparotomía; 4-Extracto con I-R + laparotomía.	

7.- RESULTADOS

7.1 Obtención de los extractos vegetales

Se obtuvieron 7 extractos metanólicos crudos: *A. xalapensis* hoja (AXH), *E. ebano* corteza (EEC), *C. macropterum* hoja (CMH), *C. foetidissima* hoja y tallo (CFH y CFT), *A. tetragonus* tallo (ATT) y *E. ebano* hoja (EEH). El mayor rendimiento de extracción se obtuvo para el extracto metanólico AXH con 42.13% (Tabla 9).

Tabla 9.-Rendimiento porcentual de los extractos metanólicos de las plantas en estudio.

Planta	Parte de la planta utilizada	% de Rendimiento (p/p)
<i>E. ebano</i>	Corteza	4.01
<i>E. ebano</i>	Hoja	18.68
<i>C. foetidissima</i>	Tallo	10.22
<i>C. foetidissima</i>	Hoja	11.21
<i>A. xalapensis</i>	Hoja	42.13
<i>C. macropterum</i>	Hoja	23.37
<i>A. tetragonus</i>	Tallo	7.58

7.2 Perfil fitoquímico

En la Tabla 10 se muestra el tamizaje fitoquímico de los 7 extractos metanólicos obtenidos: EEC, EEH, CFT, CFH, AXH, CMH Y ATT, para conocer de manera cualitativa los metabolitos presentes en cada extracto y asegurar los de naturaleza antioxidante.

Tabla 10.-Tamizaje fitoquímico de 7 extractos metanólicos de 5 plantas de Nuevo León, México.

Prueba fitoquímica	Extractos						
	EEC	EEH	CFT	CFH	AXH	CMH	ATT
Lieberman-Burchard (Esteroles/Triterpenos)	+	+	+	+	+	+	+
Cumarinas	+	+	+	+	+	+	+
Quinonas	+	+	+	+	+	+	+
Baljet	+	+	+	+	+	+	+
Sesquiterpenlactonas							
Saponinas	-	-	+	-	-	-	-
Shinoda	+	+	+	-	-	-	-
Flavonoides							
Dragendorff	-	+	-	-	-	-	-
Alcaloides							
Antrona	-	+	+	+	+	+	+
Carbohidratos							
FeCl ₃	+	+	+	-	+	+	+
Taninos							

Prueba positiva: +, Prueba negativa. EEC: Corteza de *E. ebano*, EEH: Hoja de *E. ebano*, CFT: Tallo de *C. foetidissima*, CFH: Hoja de *C. foetidissima*, AXH: Hoja de *A. xalapensis*, CMH: Hoja de *C. macropterum*, ATT: Tallo de *A. tetragonus*.

7.3 Actividad antioxidante por DPPH

En la Tabla 11 se muestran los resultados de la actividad antioxidante de cada extracto por DPPH representados en IC₅₀, % de inhibición y TEAC.

Tabla 11.-Valores de Concentración Inhibitoria Media (IC₅₀), porcentaje de Inhibición y Equivalentes de Trolox (TEAC) por DPPH para cuantificar la actividad antioxidante de 7 extractos metanólicos de 5 plantas de Nuevo León, México.

Extractos	IC₅₀ (µg/mL)	% de Inhibición a 20 µg/mL	TEAC (µM)
EEC	7.32±0.02 ^a	93±0.04	57.47±0.02
EEH	57.55±0.68 ^b	76±0.17	44.89±0.12
CFT	224.35±1.02 ^c	32±0.24	13.10±0.17
CFH	278.96±0.91 ^d	19±0.11	8.63±0.07
AXH	12.72±0.01 ^e	70±0.18	42.54±0.12
CMH	46.14±0.14 ^f	68±0.14	39.14±0.10
ATT	195.29±0.71 ^g	29±0.27	10.90±0.19
Control AA	3.82±0.12 ^h	96.17±0.09	60.06±0.06

EEC: Corteza de *E. ebano*, **EEH:** Hoja de *E. ebano*, **CFT:** Tallo de *C. foetidissima*, **CFH:** Hoja de *C. foetidissima*, **AXH:** Hoja de *A. xalapensis*, **CMH:** Hoja de *C. macropterum*, **ATT:** Tallo de *A. tetragonus*, **AA:** Ácido ascórbico, **TEAC:** equivalentes de Trolox, \pm : Desviación estándar, **IC₅₀:** Concentración inhibitoria media, n=3. Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre los extractos, extractos que comparten la misma letra no difieren significativamente entre sí (ANOVA de una vía, prueba de Tukey, $p < 0.05$).

7.4 Actividad antioxidante por ABTS

En la Tabla 12 se presentan los valores de actividad antioxidante para cada uno de los 7 extractos obtenidos y se representan por medio del IC₅₀, % de inhibición y TEAC.

Tabla 12.-Valores de Concentración Inhibitoria Media (IC₅₀), porcentaje de Inhibición y Equivalentes de Trolox (TEAC) por ABTS para cuantificar la actividad antioxidante de 7 extractos metanólicos de 5 plantas de Nuevo León, México.

Extractos	IC ₅₀ (µg/mL)	% de Inhibición a 9.9 µg/mL	TEAC (µM)
EEC	3.79±0.08 ^a	88±0.69	23.90±0.20
EEH	20.61±0.79 ^b	29±0.85	7.23±0.24
CFT	N/A	9±0.69	0.40±0.20
CFH	N/A	10±0.21	0.63±0.06
AXH	6.96±0.16 ^c	98±0.25	26.95±0.07
CMH	23.03±1.30 ^d	12±0.14	2.24±0.04
ATT	20.17±0.06 ^b	40±0.08	10.04±0.02
Control Trolox	14.69±0.31 ^e	24.74	N/A

EEC: Corteza de *E. ebano*, EEH: Hoja de *E. ebano*, CFT: Tallo de *C. foetidissima*, CFH: Hoja de *C. foetidissima*, AXH: Hoja de *A. xalapensis*, CMH: Hoja de *C. macropterum*, ATT: Tallo de *A. tetragonus*, TEAC: equivalentes de Trolox, ±: Desviación estándar, IC₅₀: Concentración inhibitoria media, n=3. Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre los extractos, extractos que comparten la misma letra no difieren significativamente entre sí (ANOVA de una vía, prueba de Tukey, p < 0.05).

7.5 Ensayo de toxicidad por Prueba de Hemólisis

En la Tabla 13 se muestran los resultados de toxicidad en % de hemólisis para todos los extractos metanólicos a la máxima concentración utilizada en el modelo murino.

Tabla 13.-Porcentaje de hemólisis a la máxima concentración de trabajo de los 7 extractos metanólicos de 5 plantas de Nuevo León, México.

Extractos	Concentración (µg/mL)	Hemólisis (%)
EEC	200	4.94±4.34
EEH	200	74.44±4.31
CFT	200	0.94±0.10
CFH	200	0.03±0.31
AXH	200	0.42±0.30
CMH	200	0.74±0.06
ATT	200	1.20±0.49

EEC: Corteza de *E. ebano*, EEH: Hoja de *E. ebano*, CFT: Tallo de *C. foetidissima*, CFH: Hoja de *C. foetidissima*, AXH: Hoja de *A. xalapensis*, CMH: Hoja de *C. macropterum*, ATT: Tallo de *A. tetragonus*, n=3

7.6 Actividad nefroprotectora

En base a los resultados obtenidos en las pruebas antioxidantes y de hemólisis se seleccionó el extracto AXH para continuar los ensayos de actividad nefroprotectora en el modelo *in vivo* ya que resultó tener un excelente potencial antioxidante por DPPH y ABTS además de no presentar actividad citotóxica sobre los eritrocitos humanos a las dosis de trabajo.

I. Marcadores Bioquímicos en suero de ratas Wistar.

Se muestran los valores séricos de AST, ALT, BUN y Creatinina, para los 4 grupos experimentales y las diferencias significativas entre los grupos basadas en el valor de la probabilidad (Figura 22).

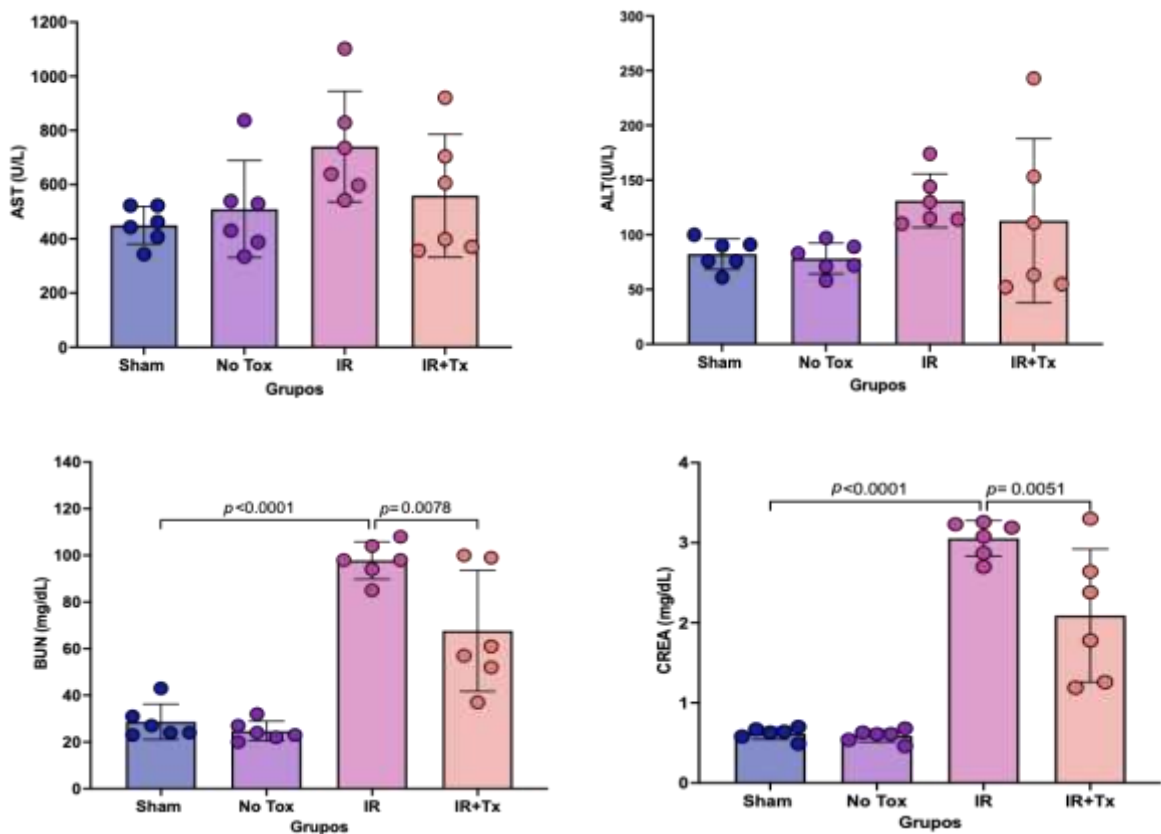


Figura 22.- Marcadores Bioquímicos de daño hepático y renal en suero de ratas Wistar. Resultados expresados como media \pm desviación estándar; ANOVA de una vía, prueba de Tukey, $p < 0.05$. Marcadores de Daño hepático: AST: aspartato amino transferasa; ALT: Alanina amino transferasa. Marcadores de Daño renal: BUN: nitrógeno ureico en sangre; CREA: creatinina.

II. Marcadores de Estrés Oxidativo en tejido renal de ratas Wistar

En la Figura 23 se representan los valores de los marcadores MAD y SOD en el tejido renal de las ratas Wistar de los 4 grupos experimentales. Se expresan las diferencias significativas entre los grupos IR e IR + TX en base al valor de la probabilidad.

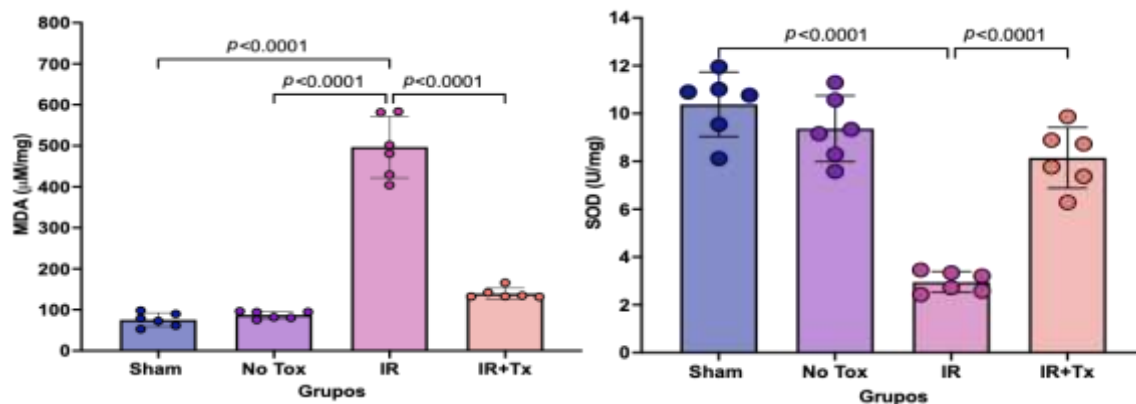


Figura 23.-Marcadores de Estrés Oxidativo en tejido renal de ratas Wistar. Resultados expresados como media \pm desviación estándar; ANOVA de una vía, prueba de Tukey, $p < 0.05$. MDA: malondialdehído; SOD: superóxido dismutasa.

8.- DISCUSIÓN

Dentro de los metabolitos secundarios contenidos en las plantas se encuentran los polifenoles que son compuestos ampliamente conocidos por sus actividades biológicas, entre las cuales destacan propiedades antioxidantes, vasodilatadoras, antiaterogénicas, antitrombóticas y antiinflamatorias (Quiñones et al. 2012). Los flavonoides son los compuestos más abundantes de este grupo y son los representantes principales de la actividad antioxidante debido a su capacidad de neutralizar los ROS de manera efectiva, además poseen efectos antiinflamatorios y anticancerígenos (Heim et al. 2002). Otros metabolitos como los taninos, cumarinas y quinonas contribuyen en menor medida a las propiedades antioxidantes de las plantas (Quiñones et al. 2012; Cores et al. 2023).

En este trabajo se realizó el tamizaje fitoquímico cualitativo de los extractos metanólicos de las cinco plantas en estudio con el objetivo de validar la presencia de metabolitos con propiedades antioxidantes en el material vegetal extraído. Los resultados confirmaron la presencia de estos compuestos en todos los extractos. Cabe destacar que no todos los extractos demostraron la presencia de flavonoides (CFH, AXH, CMH y ATT) en la prueba de Shinoda, sin embargo, no se puede excluir su presencia ya que debe encontrarse en cantidades tan bajas que superan los límites de detección y sensibilidad de esta prueba.

Morales-Salvatierra et al. (2020) reportaron la presencia de taninos, fenoles y flavonoides en extractos metanólicos de la cáscara de mahuacata de *E. ebano*, lo que coincide con los metabolitos encontrados en los extractos de corteza y hoja evaluados en este estudio. De manera similar, Pérez-Narváez (2018) reportó la presencia de esteroides, sesquiterpenlactonas, carbohidratos, taninos, cumarinas y quinonas en extractos etanólicos de hoja de *A. xalapensis*, este perfil fitoquímico concuerda con los resultados obtenidos para el extracto metanólico AXH. En contraste, los resultados observados para el extracto metanólico ATT difieren de lo reportado por Sharma y Modi (2023), quienes reportaron la presencia de compuestos alcaloides, glicósidos, fenoles, flavonoides y saponinas para el extracto hidrometanólico de tallo de *A. tetragonus*, mientras que en este trabajo únicamente se encontró presencia de sesquiterpenlactonas, quinonas, cumarinas, esteroides y triterpenos para el extracto metanólico ATT. Esto puede ser atribuido a la mayor polaridad que posee un extracto hidrometanólico respecto al metanol puro y a los

metabolitos expresados por el material vegetal obtenido al momento de la colecta (Díaz et al. 2023).

Por su parte, se ha reportado la presencia de flavonoides, saponinas, taninos, triterpenos, esteroides y alcaloides para algunas especies del género *Cucurbita* (Castillo y Moncayo 2019), estos se encontraron presentes en la mayoría de los extractos de hoja y tallo de *C. foetidissima*. En el caso de *C. macropterum* se observó la presencia de esteroides, triterpenos, cumarinas, quinonas, sesquiterpenlactonas, carbohidratos y taninos, no existen reportes del perfil fitoquímico para esta planta en la literatura revisada por lo que este trabajo representa el primer reporte de este tipo para el extracto metanólico de hoja.

Para evaluar la actividad antioxidante, se considera que un extracto posee actividad relevante cuando su $IC_{50} \leq 50 \mu\text{g/mL}$ (De la Cruz Jiménez et al. 2022). Bajo este criterio, los extractos que demostraron un efecto significativo *in vitro* fueron EEC, AXH y CMH mediante el ensayo con DPPH, y EEC, EEH, AXH, CMH y ATT con ABTS. Entre ellos, los extractos EEC y AXH exhibieron el mayor potencial con los valores más bajos de IC_{50} (DPPH: $7.32 \pm 0.02 \mu\text{g/mL}$ y ABTS: $3.79 \pm 0.08 \mu\text{g/mL}$; DPPH: 12.72 ± 0.01 y ABTS: $6.96 \pm 0.16 \mu\text{g/mL}$ respectivamente) en comparación con el resto de los extractos evaluados. Estos resultados fueron comparables con los controles utilizados en ambos métodos (ácido ascórbico DPPH: $3.82 \pm 0.12 \mu\text{g/mL}$; Trolox ABTS: $14.69 \pm 0.31 \mu\text{g/mL}$). Es importante señalar que, si bien estos valores fueron notables, el análisis estadístico reveló que todos los extractos difirieron significativamente ($p < 0.05$) respecto a los controles estándar (ácido ascórbico y Trolox).

Es importante destacar que la técnica de ABTS permitió obtener valores de IC_{50} más bajos en comparación con la técnica de DPPH dando evidencia de más extractos con actividad biológica relevante, esta diferencia es atribuida al mecanismo de acción del ABTS que además de basarse en la transferencia de átomos de hidrógeno, permite una mayor transferencia de electrones de los compuestos antioxidantes al radical, además, disminuye las interferencias asociadas a la coloración de los extractos y detecta compuestos con naturaleza lipofílica e hidrofílica. Este conjunto de características aumenta la sensibilidad de la técnica (Wootton Beard et al. 2011).

E. Ebano es una planta ampliamente estudiada en el área de alimentos debido a la riqueza nutricional de su fruto (Gracia-Vázquez 2008; Morales et al. 2020); Gracia-Vázquez (2008) reportó un porcentaje de inhibición del radical DPPH de 72.89% para un extracto metanólico de semilla tierna cocida, este resultado es comparable con el 76% obtenido para el extracto metanólico de hoja, sin embargo, el extracto metanólico de corteza presentó el mayor porcentaje de inhibición con 93%, esto nos indica la riqueza en contenido de metabolitos polares de naturaleza antioxidante en esta parte de la planta evaluada. Comparado con otras especies de la misma familia como *Prosopis farcta* (IC₅₀ por DPPH 164±0.09 µg/mL en extractos acuosos del fruto; Salari et al. 2019), el *E. ebano* representa una excelente fuente de potentes compuestos antioxidantes en base a los resultados obtenidos en este trabajo.

El extracto metanólico de hoja de *A. xalapensis* presentó el mayor porcentaje de rendimiento (42.13%) de todos los extractos analizados en este trabajo y representa la obtención de cerca de la mitad de los metabolitos presentes en el total del material vegetal extraído. Esto permitió que se obtuviera un extracto rico en metabolitos antioxidantes polares como taninos, cumarinas, quinonas y terpenos que fueron observados en el perfil fitoquímico y que le confirieron todo su potencial aun cuando hubo ausencia de flavonoides. El rendimiento de extracción para AXH fue superior (42.13%) al obtenido por Pérez Narváez (2018) para un extracto etanólico de hoja de la misma especie (19.6%), además, fue escaso en metabolitos polares debido a la naturaleza del solvente que utilizó. En lo que a actividad antioxidante respecta, AXH mostró un elevado potencial (DPPH IC₅₀: 12.72±0.01 µg/mL; ABTS IC₅₀: 6.96±0.16 µg/mL), colocándolo en segundo lugar de los mejores extractos evaluados según el criterio antes mencionado (De la Cruz Jiménez et al. 2022). Este resultado es comparable con lo reportado por Buzgaia et al. (2021) para un extracto metanólico de hoja de *Arbutus parvarii* (DPPH IC₅₀: 17.57 µg/mL). Por otro lado, Oliveira et al. (2009) obtuvieron valores más bajos de actividad antioxidante (IC₅₀: 63.2 µg/mL) para un extracto etanólico de hoja de *Arbutus unedo* L., estas diferencias son atribuidas a la polaridad del solvente utilizado, así como a los metabolitos expresados por las plantas en su entorno de crecimiento como factores genéticos de la especie y factores ambientales de temperatura, luz y agua; así como la temporada de colecta (Li et al. 2020). Finalmente, esto nos indica que la especie de estudio

en este trabajo es una de las mejores alternativas de potencial antioxidante estudiadas dentro de su género.

Para el extracto hidrometanólico de tallo de *A. tetragonus* se obtuvo un rendimiento de extracción de 7.58% que fue menor al 18.38% reportado por Sharma y Modi (2023) para un extracto hidrometanólico, esta diferencia se debe a la naturaleza polar del solvente que en este caso fue de mayor polaridad, el tipo de extracción por Soxhlet y los parámetros antes mencionados (Li et al. 2020). El extracto ATT no presentó actividad antioxidante relevante (DPPH IC₅₀:195.29±0.71 µg/ml), sin embargo, al compararlo con el IC₅₀ por DPPH de 290.36 ± 1.40 µg/ml obtenido por Sharma y Modi (2023) se observa que se obtuvo cerca de la mitad de ese valor, por lo cual se concluye que el extracto ATT posee mayor contenido de metabolitos antioxidantes a pesar del bajo rendimiento de extracción conseguido por la técnica de maceración metanólica. De manera similar, los extractos de tallo (IC₅₀ DPPH: 224.35±1.02 µg/ml) y hoja (DPPH IC₅₀ 278.96±0.91 µg/ml) de *C. foetidissima* no alcanzaron el criterio de actividad antioxidante relevante (IC₅₀ ≤ 50 µg/mL) que coincide con en el ensayo de ABTS donde no fue posible obtener la concentración necesaria para inhibir al 50% de las ROS de manera confiable debido a la baja solubilidad de los extractos a concentraciones mayores a 35 µg/mL. De manera general, las especies de este género suelen tener valores bajos de actividad antioxidante según el criterio de De la Cruz Jiménez et al. (2022) ya que existen reportes de IC₅₀ por DPPH en 1900±0.14 µg/ml, 4070 µg/ml y 4020 µg/ml para *C. ecuadorensis*, *C. máxima* y *C. moschata* respectivamente (Castillo y Moncayo 2019).

En contraste, el extracto metanólico de hoja de *C. macropterum* mostró un IC₅₀ de 46.14±0.14 µg/mL y 23.03±1.30 µg/mL por DPPH y ABTS respectivamente, indicando su alto potencial antioxidante (IC₅₀ ≤ 50 µg/mL) superior a otra especie de la familia Malpighiaceae como *Bunchosia armeniaca* (DPPH IC₅₀: 981 ± 0.002 µg/mL) reportada por Premathilaka y Silva (2016).

Para garantizar el uso seguro de los extractos obtenidos a base de plantas medicinales animales o seres humanos, es necesario realizar diversas pruebas de toxicidad que permitirán estimar el nivel de daño que puedan ocasionar sus compuestos al material biológico a las dosis utilizadas (Falya et al. 2020). El ensayo de citotoxicidad por

hemólisis es una de las pruebas *in vitro* más utilizadas para cuantificar el daño inducido por la mezcla de metabolitos de un extracto sobre la membrana de los eritrocitos humanos a una temperatura de 37° C (Mesdaghinia et al. 2019).

En este ensayo se observó que los extractos EEH (74.44±4.31 %) y EEC (4.94±4.34 %) indujeron un porcentaje de hemólisis elevado a la concentración de trabajo máxima (200 µg/mL). Por el contrario, los extractos CFH (0.03±0.31 %), AXH (0.42±0.30 %), CMH (0.74±0.06 %), CFT (0.94±0.10 %) y ATT (1.20±0.49 %) mostraron valores inferiores al 2%, por lo que se consideraron no tóxicos según el criterio de Mesdaghinia et al. (2019). Existen registros que demuestran la presencia de saponinas, alcaloides, terpenoides, taninos y algunos flavonoides en los efectos citotóxicos y hemolíticos de los extractos sobre células animales, pudiendo desencadenar daño agudo sobre el modelo *in vivo* a evaluar (Wang et al. 2007; Cushnie et al. 2014; Vo et al. 2017; Hernández Ortega et al. 2006). El daño desencadenado por los extractos EEH y EEC sobre la membrana eritrocitaria podría deberse a la presencia de los metabolitos antes mencionados en concentraciones tales que pudieron dar paso a este efecto. Esto recalca la importancia de evaluar la curva de toxicidad de los extractos vegetal con la finalidad de utilizarlos de forma segura en el modelo *in vivo* de IR renal. Cabe resaltar que, según la literatura revisada, este constituye el primer reporte de toxicidad hemolítica para estas plantas en las condiciones evaluadas.

Estos resultados fueron cruciales para la selección del extracto para el ensayo en modelo murino. A pesar de que EEC mostró el mejor potencial antioxidante, su toxicidad *in vitro* descartó su uso en el modelo murino. En cambio, el extracto AXH combinó su excelente potencial antioxidante con la ausencia de toxicidad *in vitro* por lo que fue seleccionado para evaluar su efecto nefroprotector en el modelo murino de IR renal.

La evaluación *in vitro* de la citotoxicidad no debe sustituir la necesidad de evaluar la toxicidad *in vivo*, donde la complejidad fisiológica puede generar respuestas diferentes debido a factores genéticos, de manejo y ambientales. Por ello, es esencial complementar el análisis de la seguridad con la evaluación de la actividad biológica en el modelo animal seleccionado, considerando parámetros que reflejen la correcta función hepática y renal, y el estado de estrés oxidativo general (Leos-Rivas et al. 2016).

Entre los parámetros que reflejan estas funciones se encuentran los marcadores de estrés oxidativo que incluyen al MDA, SOD, glutatión reducido, glutatión peroxidasa, catalasa; al igual que los marcadores de función hepática y renal como BUN, creatinina, urea, ácido úrico, citocinas inflamatorias, niveles de enzimas ALT y AST, además, se ha estudiado la microscopía del tejido según el modelo de daño evaluado y el tipo de órgano en estudio (Satheesh et al. 2011; Changizi Ashtiyani et al. 2013; Iseghohi y Orhue 2017; Rjeibi et al. 2018; Torres González et al. 2018; Rodríguez Rodríguez et al. 2025).

Una vez establecida la seguridad del extracto AXH *in vitro*, se procedió a evaluar su potencial toxicidad *in vivo* en el modelo murino. Como primer paso de este estudio, se analizaron marcadores clave de daño hepático y renal como ALT, AST, BUN, creatinina, además de marcadores de estrés oxidativo como MDA y la enzima SOD para analizar el comportamiento toxicológico del extracto metanólico AXH en el grupo NO TOX con administración de AXH a una dosis de 200 mg/kg de peso en las ratas Wistar (Pérez Meseguer et al. 2019). Un aumento significativo en los niveles séricos de las enzimas ALT y AST indican la pérdida de la permeabilidad de la membrana de los hepatocitos, ya que en condiciones normales se encuentran alojadas en el interior de las células y solo se liberan al torrente sanguíneo en niveles bajos durante la muerte celular programada, siendo que un incremento mayor a los niveles normales indican daño agudo y crónico a estas estructuras (FU et al. 2020). Por otro lado, el incremento de BUN, creatinina y MDA se asocian al daño por toxinas a nivel renal, mientras que la disminución de SOD indica un bajo metabolismo de ROS y complicaciones en los mecanismos de desintoxicación renal. En nuestro estudio no se observaron diferencias significativas entre los grupos SHAM y NO TOX para ninguna de las enzimas antes mencionadas lo que sugiere que el extracto no es hepatotóxico a la dosis evaluada, permitiendo mantener la integridad funcional de los hepatocitos; además, en esta parte del estudio tampoco se encontraron diferencias significativas al comparar los valores de BUN, creatinina, MDA y SOD entre los grupos SHAM y NO TOX, dejando evidencia de que AXH no presenta nefrotoxicidad a la dosis evaluada manteniendo los valores de estos marcadores en sangre y tejido renal. Este hallazgo es fundamental, ya que valida la seguridad del extracto para su posterior evaluación en un modelo de daño, coincidiendo con lo reportado por Andrade-Ordaz (2023) para *Flourensia cernua*, donde se demostró que ratas Wistar tratadas con el

extracto no presentaron diferencias significativas al compararlas con su grupo SHAM para estos parámetros en un modelo de IR renal similar, esto le permitió descartar su toxicidad y demuestra una vez más que el material vegetal puede ser estudiado como alternativa terapéutica.

Posterior a la evaluación de la no toxicidad de AXH, se evaluó su eficacia en el modelo de IR renal bilateral (IR e IR + Tx). BUN y creatinina representan los marcadores bioquímicos básicos de la función renal, ya que un aumento en sus niveles se relaciona con el daño glomerular o tubular (Castaño Bilbao et al. 2009). En cambio, la evaluación de MDA y SOD constituye los marcadores que revelan el estado de estrés oxidativo al que se encuentra sometido un órgano en concreto. La molécula de MDA es un producto directo de la peroxidación lipídica que se presenta cuando la membrana celular sufre un deterioro ocasionado por el ataque de los ROS; un incremento en sus niveles indica un fuerte daño por estrés oxidativo. Por su parte, SOD es una enzima que se encuentra de manera normal en el cuerpo humano y tiene una excelente capacidad antioxidante intracelular; cuando se produce una lesión en el tejido que genera un incremento excesivo de ROS como el ocasionado por la IR, su capacidad antioxidante se ve reducida de manera drástica, siendo necesaria la intervención de moléculas antioxidantes exógenas como las vitaminas C, E y algunos flavonoides para contrarrestar este daño y sus complicaciones. La correcta inducción del daño renal se comprobó al visualizar un incremento significativo de BUN, creatinina y MDA al igual que la disminución significativa de SOD en el grupo de IR respecto al grupo SHAM de manera similar a lo observado en otros estudios como el de Pérez-Meseguer et al. (2019) y Rodríguez-Rodríguez et al. (2025) donde indujeron daño renal por IR bilateral a ratas Wistar para evaluar la actividad de extractos vegetales. En el presente estudio se observó que AXH disminuyó de manera significativa los niveles de BUN y creatinina en las ratas sometidas a IR en ambos riñones en comparación con el control de IR. Además, al analizar los resultados del grupo IR + Tx, se pudo visualizar que el extracto AXH logró disminuir drásticamente los valores de MDA e incrementar de la misma manera los valores de la actividad enzimática de SOD comparado con el grupo IR presentando diferencias significativas, esto permitió disminuir potencialmente el estrés oxidativo en el tejido renal en el modelo de IR. De manera importante, el tratamiento con AXH casi normalizó estos parámetros respecto al grupo SHAM sin presentar diferencias

significativas entre ellos. Este comportamiento ha sido observado para otras plantas del mismo género como el extracto vegetal de *Arbutus parvarii* que redujo valores de MDA, ROS mitocondrial y óxido nítrico y aumentó SOD y glutatión reducido en un modelo de estrés oxidativo y hepatotoxicidad inducida con paracetamol en ratas macho albinas (Elshibani et al. 2024); para *Arbutus unedo*, Afkir et al. (2008) reportaron que el extracto disminuyó el MDA con un IC_{50} de 0.075 ± 0.014 respecto a un control de 0.732 ± 0.452 mg/mL en un modelo de ratas con hipertensión inducida por metil éster NG-nitro-L-arginina. Si bien no se trata del mismo modelo de daño, esto nos aporta información valiosa que demuestra que este género de plantas posee actividad protectora inherente contra el daño por estrés oxidativo.

El efecto de los extractos vegetales para atenuar el daño ocasionado por las ROS ha sido documentado en varios estudios; Torres-González et al. (2018) trabajaron el mismo modelo de IR en rata Wistar con la diferencia de un proceso de isquemia renal por 45 min y reperfusión de 15 h, encontrando que el extracto de *Sonchus oleraceus* presentó efecto nefroprotector al disminuir los marcadores de BUN, creatinina y MDA en ratas con IR tratadas con el extracto en comparación con el grupo IR. Por otro lado, Rodríguez Rodríguez et al. (2025) comprobaron el efecto nefroprotector de *Jatropha dioica* en este mismo modelo de daño con isquemia renal de 45 min y reperfusión de 24 h, en donde se observó la marcada disminución en los niveles de BUN, creatinina y MDA; además del aumento en SOD y glutatión reducido en ratas con tratamiento e IR en comparación con ratas con IR. Toda esta evidencia sugiere que el tratamiento previo con el extracto metanólico AXH presenta efecto nefroprotector en el modelo de daño por IR renal en rata Wistar, ya que normaliza los niveles de los marcadores bioquímicos renales, inhibe la peroxidación lipídica a través de la reducción del MDA e incrementa la actividad enzimática de la SOD en el tejido renal. Este efecto se encuentra fuertemente relacionado con las moléculas antioxidantes presentes en la mezcla de metabolitos activos que lo componen, por lo que AXH se considera como una estrategia farmacológica capaz de mitigar este tipo de lesión renal.

9.- CONCLUSIONES

- Los extractos de corteza de *E. ébano* y hoja de *A. xalapensis*, presentaron el mayor potencial antioxidante (DPPH y ABTS) de las 5 plantas estudiadas.
- El extracto Hoja de *A. xalapensis*, presentó mayor actividad antioxidante y no mostró citotoxicidad (hemólisis) por lo que fue seleccionado para realizar el modelo de daño de IR en ratas Wistar
- El extracto hoja de *A. xalapensis*, no es hepatotóxico ni nefrotóxico a la concentración utilizada.
- El extracto hoja de *A. xalapensis*, disminuyó significativamente los marcadores séricos de daño renal (BUN y Creatinina) respecto a los controles de IR.
- El extracto hoja de *A. xalapensis*, **presentó** actividad antioxidante *in vivo* al disminuir significativamente los valores de MDA, un producto de la peroxidación lipídica, y aumentar los valores de SOD, una enzima antioxidante, respecto a los controles de IR.
- El tratamiento previo con el extracto hoja de *A. xalapensis*, presentó efecto nefroprotector en el modelo murino con Isquemia-Reperfusión Renal a la dosis utilizada. Esta actividad se encuentra fuertemente relacionada con los metabolitos secundarios responsables de la actividad antioxidante.

En base a los resultados obtenidos el extracto hoja de *A. xalapensis* es un candidato como una alternativa para el tratamiento de un formulado nefroprotector.

10.- PERSPECTIVAS

- Realizar la identificación cuantitativa de los metabolitos presentes en el extracto metanólico AXH por medio de técnicas cromatográficas.
- Identificar y aislar los metabolitos responsables de la actividad nefroprotectora en AXH por medio de técnicas cromatográficas.
- Evaluar la actividad antioxidante y nefroprotectora de las fracciones activas de AXH en el modelo *in vivo* de IR renal en rata Wistar.
- Dilucidar el mecanismo de acción del extracto AXH sobre las células renales durante la IR renal.
- Purificar el extracto metanólico EEC para disminuir su efecto hemolítico, pues su excelente capacidad antioxidante lo colocaría como un candidato potencial para evaluación en el modelo *in vivo*.

7.- BIBLIOGRAFÍA

Afkir S, Nguelefack T, Aziz M, Zoheir J, Cuisinaud G, Bnouham M, Mekhfi H, Legssyer A, Lahlou S, Ziyat A. 2008. Arbutus unedo prevents cardiovascular and morphological alterations in L-NAME–induced hypertensive rats: parte I — efectos hemodinámicos cardiovasculares y renales. *Journal of Ethnopharmacology*, 116:288–295.

AKF's Medical Advisory Committee: American Kidney Fund 2024. Finerenona. Disponible en: <https://www.kidneyfund.org/es/tratamientos/medicamentos-para-el-control-de-la-enfermedad-renal/finerenona#:~:text=funcionen%20como%20debieran.-%20de%20la%20finerenona%3F,Debilidad%20mareo%20o%20aturdimiento>

Andrade-Ordaz CH. 2023. Efecto nefroprotector de extractos de *Flourensia cernua L.* y *Opuntia joconostle L.* [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas]. Repositorio Institucional UANL.

Basto-Abreu A, Reyes-García A, Stern D, Torres-Ibarra L, Rojas-Martínez R, Aguilar-Salinas CA, Romero-Martínez M, Campos-Nonato I, López-Ridaura R, Barrientos-Gutiérrez T. 2024. Cascadas de tamizaje y atención de la diabetes tipo 2 en México. *Salud Pública de México*, 66(4), julio-agosto. <https://doi.org/10.21149/16209>

Biobarica Medical Hyperbaric Solutions: Centers Biobarica 2018. 10 enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. Disponible en: <https://centers.biobarica.com/es/noticias/10-enfermedades-relacionadas-con-el-estres-oxidativo-LZkClvWnzGlzQBc7t9M/>

Buzgaia N, Lee SY, Rukayadi Y, Abas F, Shaari K. 2021. Antioxidant Activity, Glucosidase Inhibition and UHPLC–ESI–MS/MS Profile of Shmar (*Arbutus pavarii* Pamp). *Plants*, 10, 1659. <https://doi.org/10.3390/plants10081659>

Carrillo A, Rosales M, Wehenkel C, Foroughbakhch R, González H, Garza F. 2012. Phenols and flavonoids concentration and fungistatic activity of wood and bark of five common tropical species. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15:621-628. <https://doaj.org/article/e9c0767d40b547289a4d19d1a4c4ed3e>

Casillas-Ramírez A, Cavazos-Velázquez JS, Meza-Martínez DY, De la Garza-De León JR. 2013. Implicaciones de la lesión por isquemia-reperfusión en el trasplante de órganos. *Evidencia Médica de Investigación en Salud*, 6(S1):S5-S116.

Castaño-Bilbao I, Slon-Roblero MF, García-Fernández N. 2009. Estudios de función renal: función glomerular y tubular. Análisis de la orina. *NefroPlus*, 2(1):17-30.

Castillo J, Moncayo S. 2019. Biological activity and chemical composition in extracts of *Cucurbita ecuadorensis* H.C. Cutler & Whitaker. *Revista Científica Ciencias Naturales y Ambientales*, 13(2):92–104.

CENATRA: 2025. Estadísticas sobre donación y trasplantes. Disponible en: <https://www.gob.mx/cenatra/documentos/estadisticas-50060>

Changizi-Ashtiyani S, Najafi H, Jalalvandi S, Hosseinei F. 2013. Protective effects of *Rosa canina* L fruit extracts on renal disturbances induced by reperfusion injury in rats. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 7(4):290–298.

Conabio Enciclovida: 2021. Temas de Farmacognosia. Plantas medicinales. Productos naturales. Calabacilla loca. *Cucurbita foetidissima*. Disponible en: <https://enciclovida.mx/especies/154024-cucurbita-foetidissima>

Conabio Enciclovida: 2024. Temas de Farmacognosia. Plantas medicinales. Productos naturales. Ébano. *Ebenopsis ebano*. Disponible en: <https://enciclovida.mx/especies/171830-ebenopsis-ebano>

CONABIO: 2024. Temas de Farmacognosia. Plantas medicinales. Productos naturales. Bejuco prieto. *Callaeum macropterum*. Disponible en: <https://enciclovida.mx/especies/165100-mascagnia-macroptera>

Cushnie TPT, Cushnie B, Lamb AJ. 2014. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44(5):377–386.

De La Cruz-Jiménez L, Hernández-Torres M A, Monroy-García IN, Rivas-Morales C, Verde-Star MJ, Gonzalez-Villasana V, Viveros-Valdez E. 2022. Biological activities of seven medicinal plants used in Chiapas, Mexico. *Plants*, 11(14):1790. <https://doi.org/10.3390/plants11141790>

Díaz-Maroto S. 2000. Inhibidores de la enzima angiotensina convertasa (IECA). Farmacología e indicaciones terapéuticas. *Elsevier (Farmacología Offarm)*, 19:1578-1569.

Díaz-Villagómez DG, Hernández-Ramírez RE, Cruz- Cruz D, Villegas-Gómez C. 2023. Análisis fitoquímico: una visión integral de los métodos de extracción de productos naturales. *Naturaleza y Tecnología (Universidad de Guanajuato)*, 20(1):22–35.

Dimayuga R, Virgen M, Ochoa N. 1998. Antimicrobial screening of medicinal plants from Baja California Sur, México. *Journal of Ethnopharmacology*, 36, 1:33-43.

Elshibani FA, Alamami AD, Mohammed HA, Rasheed RA, El-Sabban R, Yehia MA, Abdel-Mageed SS, Majrashi TA, Elkaeed EB, El-Hassa MA, Eldehna WM, El-Ashrey MK. 2024. A multidisciplinary approach to the antioxidant and hepatoprotective activities of *Arbutus pavarii* Pampan fruit: In vitro and in vivo biological evaluations, and in silico investigations. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 39(1):2293639. [10.1080/14756366.2023.2293639](https://doi.org/10.1080/14756366.2023.2293639)

Estrada-Castillón E, Villarreal-Quintanilla JA, Rodríguez-Salinas MM, Encinas-Domínguez JA, González-Rodríguez H, Romero-Figueroa G, Ramón-Arévalo J. 2017. Ethnobotanical Survey of Useful Species in Bustamante, Nuevo León, Mexico. *Human Ecology*, 46(12). <https://doi.org/10.1007/s10745-017-9962-x>

Falya Y, Sumiwi SA, Levita J. 2020. Mini review: Toxicity study of plant extracts. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 15(2 Ser. I):25-32. DOI: 10.9790/3008-1502012532.

Fu, S., Wu, D., Jiang, W., Li, J., Long, J., Jia, C., & Zhou, T. 2020. Molecular Biomarkers in Drug-Induced Liver Injury: Challenges and Future Perspectives. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 1667. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01667>

González RM. 2015. Evaluación de la Integridad Ecológica en la Comunidad de Matorral Submontano de la Sierra de Picachos, Nuevo León, México. [Tesis de doctorado, Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas] Repositorio Institucional UANL.

Gracia-Vásquez YA. 2008. Caracterización química y biológica de extractos crudos de la semilla de *Ebenopsis ebano* (ébano). [Tesis de doctorado, Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas] Repositorio Institucional UANL.

Guía INIFAP / INIFAP: Guzmán SH, Díaz RS, González MM. 2017. Plantas medicinales: la realidad de una tradición ancestral. INIFAP. ISBN: 978-607-37-0856-2. Disponible en: https://vun.inifap.gob.mx/VUN_MEDIA/BibliotecaWeb/_media/_folletoinformativo/1044_4729_Plantas_medicinales_la_realidad_de_una_tradición_ancestral.pdf

Gulec B. 2011. Ischemia Reperfusion Injury in Kidney Transplantation. In: *Kidney Transplantation. New perspectives*. IntechOpen: Estambul, Turquía. DOI: 10.5772/18289, pp. 213-219.

Hajizadeh-Moghaddam A, Mohammad-Nabavi S, Fazel-Nabavi S, Bigdellou R, Mohammadzadeh S, Ali-Ebrahimzadeh M. 2012. Antioxidant, antihemolytic and nephroprotective activity of aqueous extract of *Diospyros lotus* seeds. *Natural Drugs*, 69:687-692. ISSN: 0001-6837.

Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure–activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10):572–584. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00208-5)

Hernández D, Caballero A. 2023. Trasplante renal en la próxima década: estrategias, retos y visión de futuro. *Nefrología*, 43(3):281–292. <https://doi.org/10.1016/j.nefro.2022.04.012>

Hernández Ortega, Y., Mollineda Diogo, N., & González Mosquera, D. M. (2006). *Estudio de la actividad hemolítica de los posibles taninos extraídos a partir de la Boldoa purpurascens Cav. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, 7(10). ISSN: 1695-7504.

Hernández-Rodríguez, P, Pabón-Baquero LC, Rodríguez-Álvarez MF. 2015. Propiedades químicas y biológicas de *Arbutus unedo*: una planta con potencial medicinal. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(1):144-155. ISSN: 1561-2988.

Huerta-González N. 2020. Estudio de la actividad antioxidante a través de medidas de fluorescencia. *Revista Médica Ocronos*. Disponible en: <https://revistamedica.com/actividad-antioxidante-fluorescencia/>

iNaturalist: iNaturalistMx. 2024. Observaciones: Cruceta. Disponible en: <https://mexico.inaturalist.org/observations?locale=es->

iNaturalist: iNaturalistMx. 2024. Observaciones: Madroño. Disponible en: [https://mexico.inaturalist.org/observations?locale=es-](https://mexico.inaturalist.org/observations?locale=es-MX&place_id=6793&preferred_place_id=6793&subview=map&taxon_id=158552)

Iseghohi SO, Orhue NEJ. 2017. Aqueous extract of *Dennettia tripetala* ameliorates liver and kidney damage caused by multiple exposures to carbon tetrachloride. *Clinical Phytoscience*, 3:4. <https://doi.org/10.1186/s40816-017-0043-x>

Leos-Rivas C, Rivas-Morales C, García DG. 2016. Actividad antioxidante y toxicidad. En: Investigación en plantas de importancia médica, OmniaScience, Barcelona, España, pp. 41–76. <https://doi.org/10.3926/oms.333>

Li Y, Kong D, Fu Y, Sussman MR, Wu H. 2020. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 148:80–89. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>

Malek M, Nematbakhsh M. 2015. Renal ischemia/reperfusion injury: from pathophysiology to treatment. *Journal of Renal Injury Prevention*, 4(2):20–27. <https://doi.org/10.12861/jrip.2015.06>

Mesdaghinia A, Pourpak Z, Naddafi K, Nodehi RN, Alizadeh Z, Rezaei S, Mohammadi A, Faraji M. 2019. An in vitro method to evaluate hemolysis of human red blood cells (RBCs) treated by airborne particulate matter (PM10). *MethodsX*, 6:156-161. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2019.01.001>

Mirończuk-Chodakowska I, Witkowska AM, Zujko ME. 2018. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in Medical Sciences*, 63(1):68–78. <https://doi.org/10.1016/j.advms.2017.05.005>

Morales-Salvatierra A, Santiago-Adame R, Lizarazo-Ortega C, Treviño-Salinas M, Rodríguez-Castillejos G. 2020. Obtención y cuantificación de compuestos antioxidantes de cáscara de mahuacata. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 5:722–726.

Moreno-Salazar SF, Enríquez-Verdugo A, Cuamea-López C, Bolado-Martínez E, Medrano-Candelas T, Robles-Zepeda RE. 2008. Activity of Medicinal Plants, Used by Native Populations from Sonora, Mexico, Against Enteropathogenic Bacteria. *Pharmaceutical Biology*, 46:732-737. <https://doi.org/10.1080/13880200802215800>

National Kidney Foundation Inc. 2023. Medicamentos revolucionarios para la enfermedad renal y la diabetes tipo 2. Disponible en: <https://www.kidney.org/es/newsletter/medicamentos-revolucionarios-para-la-enfermedad-renal-y-la-diabetes-tipo-2>

National Kidney Foundation Inc. 2024. Inhibidores del cotransportador de sodio-glucosa tipo 2 (SGLT2). Disponible en: <https://www.kidney.org/es/atoz/content/inhibidores-del-cotransportador-de-sodio-glucosa-tipo-2-sgl2#efectos-secundarios>

National Kidney Fund Committee (AKF). 2024. Finerenona. American Kidney Fund. Disponible en: <https://www.kidneyfund.org/es/tratamientos/medicamentos-para-el-control-de-la-enfermedad-renal/finerenona#:~:text=funcionen%20como%20debieran.,%C2%BFcu%3%A1les%20son%20algunos%20efectos%20secundarios%20frecuentes%20de%20la%20finerenona%3F,Debilidad%20mareo%20aturdimiento>

National Library of Medicine: Eisenberg JM. 2012. Medicamentos para la enfermedad renal crónica en fase inicial. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK116645/>

NIH (National Institutes of Health): 2018. Insuficiencia renal. Disponible en: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/informacion-de-la-salud/enfermedades-riñones/insuficiencia-renal/que-es#:~:text=La%20insuficiencia%20renal%20significa%20que,los%20pies%20o%20los%20tobillos>

Okur ME, Ayla Ş, Karadağ AE, Çiçek Polat D, Demirci S, Seçkin İ. 2020. *Opuntia ficus indica* fruits ameliorate cisplatin-induced nephrotoxicity in mice. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 43(3): 496–502. <https://doi.org/10.1248/bpb.b19-01044>

Oliveira I, Coelho V, Baltasar R, Pereira JA, Baptista P. 2009. Scavenging capacity of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaves on free radicals. *Food Chem. Toxicol.* 2009, 47:1507–1511. DOI: 10.1016/j.fct.2009.03.042

Osorio-Pérez A, Félix- Serrano E, Salazar-Aranda R, Vargas-Zapata R, Waksman de Torres N. 2016. Importancia biomédica de plantas del municipio de Culiacán, Sinaloa. En: XXVIII Congreso Nacional de Investigación en Medicina. ELSEVIER: México, pp. 1–67.

Pérez A, Pérez K, Chamorro L. 2014. Actividad antimicrobiana del extracto de *Mascagnia macrodena* (DC) Mied sobre *Collectotrichum gloeosporioides* causante de antracnosis en Ñame. *Revista UDCA Actualidad y Divulgación Científica*, 17(2):413-422. <https://doi.org/10.31910/rudca.v17.n2.2014.244>.

Pérez OA. 2018. Efecto antioxidante y citoprotector de extractos de plantas con actividad antimicrobiana. [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas]. Repositorio Institucional UANL.

Pérez-Meseguer J, Torres-González L, Gutiérrez-González JA, Alarcón-Galván G, Zapata-Chavira H, Waksman-De Torres N, Moreno-Peña DP, Muñoz-Espinosa LE, Cordero-Pérez P. 2019. Anti-inflammatory and nephroprotective activity of *Juglans mollis* against renal ischemia-reperfusion damage in a Wistar rat model. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19:186. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2604-7>

Pérez-Narváez OA, Leos-Rivas C, Rivas-Morales C, Villarreal-Treviño L, Barrón-González MP, Sánchez-García E. 2019. Actividad antimicrobiana y antioxidante de extractos etanólicos de hoja de *Arbutus xalapensis* Kunt, *Mimosa malacophylla* Gray y

Teucrium cubense Jacquin. *Revista Tendencias en Docencia e Investigación en Química*, 5:739-747.

Premathilaka ULRR, Silva GMSW. 2016. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Bunchosia armeniaca*. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(10):1237–1247. <https://doi.org/10.20959/wjpps201610-7783>

Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. 2012. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76–89. DOI:10.3305/nh.2012.27.1.5418

Rangel JM, Rangel-Guerrero JM, Flores-Benítez S, Cadena-Iñiguez J, Morales-Flores FJ, Trejo-Téllez BI. 2018. Extractos de frutos de *Cucurbita foetidissima* (kunth) inhiben el crecimiento de fitopatógenos de interés agrícola. *Agro Productividad*, 11(10):107–115. <https://doi.org/10.32854/agrop.v11i10.1253>

Revivemx: 2003. Fichas para la propagación de árboles clave para la restauración ecológica. Disponible en: https://revivemx.org/Recursos/Fichas_propagacion/FichaPropagacion_F2_Arbutus_xalapensis.pdf

Rjeibi I, Feriani A, Ben Saad A, Sdayria J, Saidi I, Ncib S, Souid S, Allagui MS, Hfaiedh N. 2018. *Lycium europaeum* extract: A new potential source of antioxidants against cisplatin-induced liver and kidney injuries in mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 5:2018:1630751. DOI: 10.1155/2018/1630751

Rodríguez-Rodríguez DR, Mendoza-Hernández OH, Cordero-Pérez P, Rivas-Galindo VM, Moreno-Peña DP, Tijerina-Márquez R, Garza-Villarreal AM, Alarcón-Galván G, Muñoz-Espinosa LE, Zapata-Chavira HA, Hernández-Guedea MA, Solís-Cruz GY, Torres-González L. 2025. Nephroprotective and antioxidant effects of *Jatropha dioica*

extract against ischemia–reperfusion injury in Wistar rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(5):1838. <https://doi.org/10.3390/ijms26051838>

Romero Mireles LL. 2025. *Casi 12 % de la población sufre enfermedad renal crónica en México* [Nota en Gaceta UNAM]. *Gaceta UNAM*. En: <https://www.gaceta.unam.mx/casi-12-de-la-poblacion-sufre-enfermedad-renal-cronica-en-mexico/>

Ruiz ML. 2020. Guía de Determinación de la actividad antioxidante. Universidad Simón Bolívar, pp. 1–7.

Salari S, Esmailzadeh-Bahabadi S, Samzadeh-Kermani A, Yosefzai F. 2019. In-vitro evaluation of antioxidant and antibacterial potential of green synthesized silver nanoparticles using *Prosopis farcta* fruit extract. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 18(1), e126112. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2019.2330>

Salehi B, Sharifi J, Capanoglu E, Adrar N, Catalkaya G, Shaheen S, Jaffer M, Giri L, Suyal R, Jugran A, Calina D, Docea A, Kamiloglu S, Kregiel D, Antolak H, Pawlikowska E, Sen S, Acharya K, Bashiry M, Selamoglu Z, Martorell M, Sharopov F, Martins N, Namiesnik J, Cho W. 2019. Cucurbita Plants: From Farm to Industry. *MDPI: Applied Sciences*, 9(16): 3387. <https://doi.org/10.3390/app9163387>

San Marcos Growers. *Mascagnia macroptera* - Butterfly Vine, San Marcos Growers. Disponible en: https://www.smgrowers.com/products/plants/plantdisplay.asp?plant_id=2499

Satheesh-Kumar D, Kottai-Muthu A, Anton-Smith A, Manavalan R. 2011. *In vivo* antioxidant and lipid peroxidation effect of various extracts of whole plant of *Mucuna pruriens* (Linn) in rat fed with high fat diet. *Asian Journal of Chemistry*, 2:823-825.

Sharma P, Modi N. 2023. Investigating the qualitative and quantitative phytochemical analysis of *Acanthocereus tetragonus* (cactaceae family) along with the antioxidant

activity. *Peer-Reviewed, Multidisciplinary & Multilingual Journal*, 2:176–182. SSN: 2321-1520

Tesoriere L, Butera D, Pintaudi AM, Allegra M, Livrea MA. 2004. Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C. *The American Journal Of Clinical Nutrition*, 80(2):391-395. <https://doi.org/10.1093/ajcn/80.2.391>

Torres-González, L, Cienfuegos-Pecina E, Perales-Quintana MM, Alarcón-Galván G, Muñoz-Espinosa LE, Pérez-Rodríguez E, Cordero-Pérez P. 2018. Nephroprotective effect of *Sonchus oleraceus* extract against kidney injury induced by ischemia-reperfusion in Wistar rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1–10. DOI: 10.1155/2018/9572803

Tu Biología: Galan C. 2020. *Arbutus xalapensis*. Disponible en: <https://tubiologia.forosactivos.net/t15150-arbutus-xalapensis>

UNAM: Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. 2009. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Calabacilla. Disponible en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=cucurbita-foetidissima>

UNAM: *Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional*. 2009. *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana*. Doncella amarilla. Disponible en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=mascagnia-macroptera>

University of South Florida Herbarium (USF): 1978. *Mascagnia macroptera*, Herbanwmex. Disponible en: <https://herbanwmex.net/portal/collections/individual/index.php?occid=21653787>

Valades MC. 2005. Evaluación de las Propiedades Físicas y Químicas de Once Especies Maderables del Matorral Tamaulipeco como Indicadores de Resistencia y Uso Potencial. [Tesis de doctorado, Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas]. Repositorio Institucional UANL.

Valenzuela GM, Cravzov AL, Soro AS, Tauguinas AL, Giménez MC, Gruszycki MR. 2014. Relación entre actividad antioxidante y contenido de fenoles y flavonoides totales en semillas de *Cucurbita spp. Dominguezia*, 30:19–24.

Verner R. 2010. Diabetes mellitus en el paciente con enfermedad renal avanzada. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 21 (4):585–594. DOI: 10.1016/S0716-8640(10)70574-5

Vo NNQ, Fukushima EO, Muranaka T. 2017. Structure and hemolytic activity relationships of triterpenoid saponins and sapogenins. *Journal of Natural Medicines*, 71(1):50-58. <https://doi.org/10.1007/s11418-016-1026-9>

Wang Y, Zhang Y, Zhu Z, Zhu S, Li Y, Li M, Yu B. 2007. Exploration of the correlation between the structure, hemolytic activity, and cytotoxicity of steroid saponins. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15(7): 2528-2532. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.01.058>

Wootton-Beard PC, Moran A, Ryan L. 2011. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods. *Food Research International*, 44 (1):217-224. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.033>

Zamora-Martínez M, Torres-Rojo JM. 2002. Estado actual de la información sobre productos forestales no madereros. En: Estado de la información forestal en México. FAO: Santiago, Chile, pp. 179—274.

Zhang M, Liu Q, Meng H, Duan H, Liu X, Wu J, Gao F, Wang S, Tan R, Yuan J. 2024. Ischemia-reperfusion injury: molecular mechanisms and therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 9(1):12. DOI: 10.1038/s41392-023-01688-x

Zhang QW, Lin LG, Ye WC. 2018. Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese medicine*, 13(1):1-26

8.- CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividades a realizar	Mes y Año para realizar actividades	Resultados esperados
Seminario de presentación de tesis	Diciembre 2024	Presentar la propuesta de anteproyecto y divulgar la investigación a realizar.
Colecta del material vegetal	Enero-Julio 2024	Obtener el material adecuado y completo para empezar el trabajo experimental.
Obtención de extractos de las 5 plantas	Agosto 2024	Obtener extractos metanólicos adecuados para las siguientes determinaciones y con rendimiento suficiente para su uso.
Análisis fitoquímico de los 5 extractos	Septiembre 2024	Obtener el perfil fitoquímico de los extractos que evidencien los posibles compuestos responsables de la actividad antioxidante según la bibliografía.
Determinación de la actividad antioxidante de los 5 extractos	Octubre 2024	Comparar las actividades antioxidantes obtenidas experimentalmente para cada extracto, y así seleccionar al que posea mayor potencial antioxidante para evaluar su efecto nefroprotector.
Ensayos de citotoxicidad	Noviembre-Diciembre 2024	Verificar la toxicidad celular del extracto con mayor potencial antioxidante para después evaluar su efecto nefroprotector con mayor seguridad.
Evaluación de la actividad nefroprotectora	Enero-Junio 2025	Asegurar el efecto nefroprotector in vivo del extracto metanólico con mayor potencial antioxidante que pueda ser usado en un futuro como alternativa de tratamiento

		contra el daño por isquemia-reperfusión.
Redacción de tesis	Enero 2024-Diciembre 2025	Generar una tesis con la información completa del diseño experimental, metodología y resultados que pueda tener continuidad y que sea reproducible en todos los aspectos de los procedimientos.
Seminario de terminación de tesis	Diciembre 2025	Divulgación de los resultados obtenidos por experimentación y confirmación de la hipótesis planteada