

División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Departamento de Sistemas Biológicos  
*Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica*

### **PROYECTO DE SERVICIO SOCIAL**

Proyecto Genérico del Departamento de Sistemas Biológicos:  
Obtención de materias primas, principios activos, medicamentos y productos biológicos.  
Extracción de principios activos y detección de actividad antiinflamatoria a partir de productos naturales.

### **TÍTULO DEL PROYECTO**

Búsqueda de la actividad antiinflamatoria de los extractos orgánicos de la especie vegetal *Sida acuta*.

Lugar de desarrollo del proyecto:

Laboratorio de investigación química orgánica y productos naturales, edificio N. (UIDIS) de la UAM-X

Nombre del alumno:

Velazquez Torres Nancy Yazmin

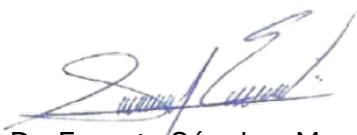
Matrícula:

2193072723

Duración del Proyecto:

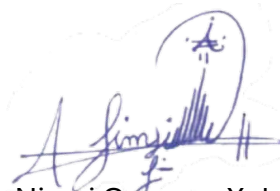
12 de octubre de 2023 al 12 de abril de 2024

Asesor(es) interno(s):



Dr. Ernesto Sánchez Mendoza

No. Económico 35036



Dra. Nimsi Campos Xolalpa

No. Económico 9000061

## ÍNDICE

<b>1.- INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>4</b>
<b>2.- MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>5</b>
2.1 Inflamación.....	5
2.2 Fisiopatología de la inflamación.....	5
2.3 Tratamiento para la Inflamación y efectos secundarios .....	6
2.3.1 Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs).....	7
2.3.2 Antiinflamatorios esteroideos o glucocorticoides (AIEs /GC).....	8
2.4 Tratamiento alternativo.....	9
2.5 Taxonomía de <i>Sida acuta</i> .....	9
2.6 Usos tradicionales de <i>Sida acuta</i> .....	10
<b>3.- JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>10</b>
<b>4.- OBJETIVOS.....</b>	<b>10</b>
4.1 Objetivo general.....	11
4.2 Objetivos específicos.....	11
<b>5.- METODOLOGÍA.....</b>	<b>11</b>
<b>5.1</b> Colecta de planta.....	<b>11</b>
<b>5.2</b> Método de extracción.....	<b>11</b>
<b>5.3</b> Método de fraccionamiento.....	<b>11</b>
<b>5.4</b> Evaluación de la actividad antiinflamatoria en modelos in vivo e in vitro del extracto y fracciones .....	<b>12</b>
5.4.1 Modelo <i>in vivo</i> .....	12
5.4.1.1 Ensayo de edema auricular agudo inducido por TPA en ratones CD1.....	13
5.4.2 Modelo <i>in vitro</i> .....	13
5.4.2.1 Ensayo de Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT)...	15
5.4.2.2 Determinación de la producción de Óxido nítrico (NO) por macrófagos estimulados con LPS.....	16
<b>6.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>16</b>
6.1 Obtención del extracto y su evaluación antiinflamatoria.....	16
6.1.1 Actividad antiinflamatoria del extracto de diclorometano.....	16
6.2 Obtención de las fracciones y su evaluación antiinflamatoria.....	17
6.2.1 Actividad antiinflamatoria de las fracciones del extracto de diclorometano.....	19
6.2.2 Fracción F13.....	20
6.2.3 Fracción activa F12.....	22
6.3 Viabilidad.....	24
6.4 Evaluación de la producción de Óxido Nítrico.....	26
<b>7.- CONCLUSIONES.....</b>	<b>27</b>
<b>8.- BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>28</b>

## ABREVIATURAS

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico

**Sa:** *Sida acuta*

**SIRS:** Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica

**PRR:** Receptores de reconocimiento de patrones

**PAMPs:** Patrones moleculares asociados a patógenos

**DAMPs:** Patrones moleculares asociados al daño

**COX:** Ciclooxygenasa

**COX-1:** Ciclooxygenasa 1

**COX-2:** Ciclooxygenasa 2

**AINEs:** Antiinflamatorios no esteroideos

**PGI:** Prostaciclina

**SRAA:** Sistema renina-angiotensina-aldosterona

**GC:** Glucocorticoides

**UPEAL:** Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio

**TPA:** 13-acetato de 12-O-decanoliforbol

**DMEM:** El medio Eagle modificado de Dulbecco

**IC:** Intervalo de confianza

**CO<sub>2</sub>:** Dióxido de carbono

**ANOVA:** Análisis de Varianza Anova

**NO:** Óxido Nítrico

**LPS:** Lipopolisacárido

**MTT:** Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol).

**NADH:** Dinucleótido de nicotinamida y adenina reducida

**NADPH:** Nicotiamida-Adenina dinucleotido fosfato reducida

**IC<sub>50</sub>:** Concentración inhibitoria 50

**F12:** Fracción activa de la especie vegetal *Sida acuta*

**PKC:** Proteína cinasa C

## 1.- INTRODUCCIÓN

Cuando un tejido del organismo resulta dañado, ya sea por una infección microbiana o por agentes físicos o químicos, se desencadena una reacción fisiopatológica de defensa, conocida como inflamación. La inflamación, se define como una respuesta protectora cuya finalidad es mantener la homeostasis de los tejidos, órganos y sistemas. Sin embargo, cuando la inflamación no se regula adecuadamente, puede provocar diversas afecciones patológicas, enfermedades crónico-degenerativas e incluso lesiones oxidativas en el ADN, lo que podría favorecer, con el tiempo, la aparición de transformaciones neoplásicas. Actualmente, la inflamación se ha convertido en un tema central de numerosas investigaciones y tratamientos, ya que se ha demostrado que contribuye significativamente a la morbilidad a nivel mundial (García. P, 2008).

Para prevenir las complicaciones asociadas a la inflamación, se han desarrollado fármacos antiinflamatorios. No obstante, el uso crónico de estos medicamentos puede causar efectos adversos graves, principalmente en los sistemas gastrointestinal, renal y vascular. Por esta razón, el tratamiento de la inflamación se ha convertido en un desafío por sí mismo. Como respuesta a esta problemática, se ha propuesto el uso de compuestos biológicamente activos derivados de plantas. Para garantizar la seguridad y efectividad de estas alternativas terapéuticas, es fundamental realizar ensayos preclínicos, clínicos y estudios toxicológicos rigurosos (Jiménez. J et al., 2020).

Las plantas han sido utilizadas como recursos curativos por comunidades rurales e indígenas desde tiempos ancestrales, lo que ha impulsado el interés por su estudio y aplicación en la prevención y tratamiento de enfermedades. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), alrededor del 80% de la población mundial recurre a la medicina tradicional como medio curativo. En México, se estima que existen alrededor de 4,000 especies de plantas con propiedades medicinales. De estas, la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Conabio) ha registrado aproximadamente 3,000 plantas, lo que representa el 15% de la flora nacional. Sin embargo, solo el 5% ha sido analizado científicamente, lo que limita su integración en los sistemas de salud pública por falta de evidencia farmacológica (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2021).

La acción farmacológica de las plantas se atribuye principalmente a los metabolitos secundarios, estos compuestos químicos pueden presentar efectos terapéuticos, además, debido a los metabolitos activos, pueden interactuar con otros compuestos presentes en las plantas generando desde sinergismos hasta inhibiciones (Consolini. A et al., 2023).

*Sida acuta*, recolectada en San Luis Potosí, México, ha sido propuesta como alternativa terapéutica debido a sus propiedades antimicrobianas, antipalúdicas, antioxidantes, hepatoprotectoras y antiinflamatorias (Uysal. S et al., 2021). Sin embargo, la escasez de estudios científicos y perfiles químicos detallados motiva la necesidad de investigar sus componentes bioactivos. En este contexto, la presente investigación se centra en evaluar la actividad antiinflamatoria de un extracto de diclorometano de *Sida acuta*, con el objetivo

de identificar y caracterizar los compuestos responsables de este efecto, aportando información novedosa que pueda ampliar las alternativas terapéuticas para el manejo de procesos inflamatorios.

## **2.- MARCO TEÓRICO**

### **2.1 Inflamación**

La inflamación es una respuesta del organismo frente a una agresión de origen exógeno o endógeno (González y Padrón, 2019). Su objetivo principal es aislar y contener la lesión para eliminar el agente agresor y, posteriormente, la reparación del tejido dañado. Durante este proceso se manifiestan cinco signos característicos: rubor, calor, dolor, tumor e impotencia funcional, los cuales resultan de la acumulación de leucocitos o de las lesiones ocasionadas por agentes patógenos o no patógenos (González y Padrón, 2019).

La inflamación se divide en dos fases: aguda y crónica. La inflamación aguda posee un carácter protector, se desarrolla en cuestión de minutos u horas e involucra mecanismos de la respuesta inmune innata. En esta fase se busca la destrucción del agente agresor, aunque puede progresar hacia sepsis o un Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS), ambos desencadenados por infecciones. Si la inflamación aguda persiste, puede evolucionar hacia una inflamación crónica, que se desarrolla a lo largo de días, semanas, meses o incluso años (Robbins y Cotran, 2017). Las causas de la inflamación crónica incluyen infecciones persistentes, respuestas inmunitarias anormales contra tejidos propios o condiciones como la obesidad. Con el tiempo, este estado puede ocasionar daño al ADN y aumentar el riesgo de cáncer. En conjunto, todo proceso inflamatorio transcurre a través de distintas etapas programadas para controlar y limitar el daño al organismo (Salas. K, 2019).

### **2.2 Fisiopatología de la inflamación**

La fisiopatología de la inflamación se caracteriza por la activación de complejos mecanismos celulares y moleculares. La primera etapa inicia cuando ocurre un daño directo a la célula. Como respuesta, las células del sistema inmune liberan mediadores inflamatorios que inducen alteraciones vasculares y efectos quimiotácticos, contribuyendo al desarrollo del proceso inflamatorio (Bordés. R et al., 2010).

La mayoría de estos mediadores son sintetizados por mastocitos y basófilos que al ser liberados provocan cambios vasculares que permiten el paso de componentes sanguíneos hacia el tejido inflamado, lo que favorece la formación de un edema (Bordés, Martínez y García, 2010).

En la segunda etapa, la expresión de mediadores inflamatorios activa respuestas que facilitan la llegada de moléculas y células inmunes al sitio de la lesión. Este proceso ocurre en dos fases. La fase inicial se caracteriza por la llegada de inmunoglobulinas, factores del

complemento, cininógenos, proteína C reactiva y factores de coagulación. En la fase tardía, varias células inmunes migran al foco inflamatorio mediante mecanismos de adhesión y quimiotaxis. Algunas células inmunes son basófilos, neutrófilos, macrófagos, linfocitos T y B, así como eosinófilos y cada una tienen funciones específicas: el basófilo libera mediadores; los neutrófilos, eliminan gérmenes por fagocitosis y mecanismos extracelulares; los mastocitos presentan antígenos a linfocitos T y B, lo que activa la respuesta específica; los linfocitos B producen anticuerpos y potencian la inflamación, mientras que los linfocitos T generan linfoquinas que prolongan la respuesta. Finalmente, los eosinófilos regulan y limitan el proceso inflamatorio (Bordés. R et al., 2010).

En la tercera etapa, la respuesta inflamatoria se autorregula con el fin de evitar una activación excesiva que pueda dañar al organismo. Para ello intervienen mediadores como histamina, prostaglandinas E, heparina y eosinófilos, los cuales modulan la intensidad y duración de la inflamación inhibiendo la acción de diversas células y la liberación de mediadores proinflamatorios.

La cuarta y última etapa corresponde a la reparación del tejido dañado. Una vez eliminado el agente causal, los fibroblastos son activados por la interleucina-1 (IL-1) y comienzan a sintetizar colágeno para favorecer la regeneración. Al mismo tiempo, ocurre la proliferación de células epiteliales y la formación de nuevos vasos sanguíneos, lo que permite restaurar la integridad y función del tejido afectado (Bordés. R et al., 2010).

### **2.3 Tratamiento para la inflamación y efectos secundarios**

El tratamiento de la inflamación tiene como objetivo principal reducir el dolor, la hinchazón y otras manifestaciones derivadas de lesiones, infecciones o enfermedades autoinmunes. (Serra. H et al., 2012). Este se clasifica en dos grandes grupos: los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) y los antiinflamatorios esteroideos (AIE) (Esperanza. E et al., 2024).

Aunque ambos grupos resultan esenciales para el alivio de distintos procesos patológicos, su uso puede estar acompañado de efectos adversos que dependen de factores como la dosis, las interacciones farmacológicas y las comorbilidades del paciente (Maldonado. D et al., 2024). Estos efectos secundarios pueden afectar diversos sistemas del organismo, desde molestias gastrointestinales, hasta alteraciones metabólicas o supresión inmunitaria con el empleo de glucocorticoides. Por esta razón, es indispensable que su administración se realice bajo supervisión médica para reducir riesgos (Prieto. J, 2007).

### 2.3.1 Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)

Los AINEs constituyen uno de los grupos farmacológicos más empleados a nivel mundial. Su acción terapéutica se basa en la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX), encargada de la síntesis de prostaglandinas (PG) a partir del ácido araquidónico y otros ácidos grasos precursores. Al disminuir la producción de PG, se limita la llegada de células y moléculas al foco inflamatorio, reduciendo así la inflamación en los tejidos afectados. Además de su efecto antiinflamatorio, los AINEs presentan otras acciones farmacológicas como: Analgésica, al reducir la sensibilización de las terminaciones nerviosas mediada por las PG. Antipirética, ya que las PG elevan el punto de ajuste del termostato hipotalámico, y su inhibición contribuye a disminuir la fiebre.

Algunos AINEs inhiben la síntesis de tromboxano A<sub>2</sub>, disminuyendo la activación plaquetaria y el proceso de coagulación. Aunque presentan diversidad química y propiedades farmacocinéticas distintas, comparten un perfil de efectos secundarios relativamente común. A pesar de ello, en la práctica clínica a menudo se observa tanto un uso insuficiente como un abuso innecesario de estos medicamentos (Maldonado. D et al., 2024). En la Tabla 1 se muestran algunos de los daños sistémicos y efectos secundarios asociados al uso de estos fármacos.

**Tabla 1.** Daños sistémicos y efectos secundarios causados por los AINEs.

Daño	Fisiopatología	Efectos secundarios
Gastrointestinales	Inhibe la COX-1, evitando la formación de prostaciclina (PGI), la cual es la encargada de cuidar a la mucosa.	Dispepsia, reflujo gastroesofágico, acidez estomacal, úlcera péptica y hemorragia.
Renales	A nivel renal la COX-1 tiene por función el control de la tasa de filtrado glomerular renal y el trabajo de la COX-2 es la de excretar sodio y agua.	Vasoconstricción, menor flujo sanguíneo (isquemia) hacia las nefronas, disminuyendo el funcionamiento del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) y posterior lesión renal aguda.
Cardiovasculares	Disminuye la síntesis de prostaglandina I <sub>2</sub> y tromboxano A <sub>2</sub> plaquetario como consecuencias de la inhibición de la COX-2 dada por los AINEs.	Infarto de miocardio y accidente cerebrovascular, también en nivel moderado exacerbar la insuficiencia cardíaca, arritmias y muerte cardíaca súbita.

Tabla obtenida de Maldonado. D et al., 2024.

### 2.3.2 Antiinflamatorios esteroideos o glucocorticoides (AIEs/GC)

Los antiinflamatorios esteroideos o glucocorticoides son los fármacos antiinflamatorios más eficaces, con actividad en todas las fases de la inflamación y en la mayoría de las reacciones alérgicas. Derivan del cortisol (hidrocortisona), hormona producida por la corteza suprarrenal y esencial en la adaptación al estrés físico y emocional. Los glucocorticoides sintéticos reproducen las acciones del cortisol endógeno y se emplean ampliamente en la práctica clínica (Serra. H et al., 2012).

Su acción terapéutica se debe a múltiples mecanismos, entre los que destacan: la inhibición de citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ), la reducción de la migración de macrófagos y neutrófilos, la disminución de la liberación de autacoides y enzimas lisosomales, la inhibición de la degranulación mastocitaria y de las respuestas mediadas por IgE, así como la limitación de la expansión clonal y la citotoxicidad de células T.

A pesar de su eficacia, su uso debe limitarse al menor tiempo posible y con la dosis mínima efectiva, o bien combinarse con otros fármacos para reducir su consumo. Entre sus efectos adversos más relevantes se encuentran la aterosclerosis, insuficiencia cardíaca, arritmias, dislipidemia, resistencia a la insulina, hiperglucemia posprandial y alteraciones en el metabolismo de lípidos (Sánchez P., Dután F. et al., 2024).

El empleo prolongado de glucocorticoides incrementa el riesgo de reacciones adversas graves, lo que ha impulsado la búsqueda de alternativas más seguras, como las terapias basadas en compuestos naturales. En la Tabla 2 se muestran los efectos sistémicos causados por el uso crónico de AIEs o GC.

**Tabla 2.** Efectos sistémicos causados por el uso crónico de antiinflamatorios esteroideos.

Órgano comprometido	Fisiopatología
Piel	Menor proliferación de fibroblastos y queratinocitos. Alteración en procesamiento de colágeno. Menor expresión de proteínas y lípidos en la matriz. Disminución factor de crecimiento de queratinocitos.
Sistema Gastrointestinal	Alteración en proliferación celular, migración, diferenciación, formación de nuevo epitelio. Alteración en la formación de la matriz celular.
Músculo esquelético	Inhibición de síntesis de proteínas y captación de aminoácidos. Aumento proteólisis muscular. Atrofia fibras tipo I. Apoptosis de osteocitos, pérdida remodelamiento, necrosis ósea de la cabeza humeral, fémur distal.

Tabla obtenida de Sánchez. P et al., 2024.

## 2.4 Tratamiento alternativo

Los tratamientos alternativos incluyen enfoques basados en la medicina natural y complementaria, entre ellos la fitoterapia y diversas terapias físicas. Estos métodos, usados desde la antigüedad, se investigan actualmente como opciones terapéuticas sostenibles, con la ventaja de minimizar los efectos adversos asociados a los fármacos convencionales (Consolini. A et al., 2023).

A nivel mundial, millones de personas recurren a la medicina tradicional como primera línea de atención o como complemento al tratamiento químico. La Organización Mundial de la Salud (OMS) la define como el conjunto de conocimientos, prácticas y creencias de diferentes culturas orientadas a mantener la salud, prevenir, diagnosticar y tratar enfermedades físicas o mentales (Consolini. A et al., 2023). En México, la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Conabio) ha estimado que más del 80% de la población mexicana ha recurrido al menos una vez al uso de plantas medicinales (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2021). Esta acción terapéutica sobre el uso de las plantas suele atribuirse a los metabolitos secundarios, los cuales, tienden a generar menos efectos adversos en el organismo.

Farmacológicamente, los compuestos derivados del metabolismo secundario de las plantas son de gran interés, pues entre sus efectos destacan propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, antioxidantes, antitumorales y antivirales (Consolini. A et al., 2023).

En este contexto, el presente trabajo propone a *Sida acuta* como alternativa de tratamiento para la inflamación. Su estudio contribuirá al conocimiento y validación de su uso terapéutico.

## 2.5 Taxonomía de *Sida acuta*

Reino: plantae

Clase: Dicotiledóneas

Orden: Malvales

Familia: Malvaceae

Género: *Sida*

Especie: *S. acuta*

Nombre científico: *Sida acuta* Burman f  
(Uslay.S et al., 2021).



**Fig 1.** Planta de *Sida acuta*

## 2.6 Usos tradicionales de *Sida acuta*

*Sida acuta* (hierba de escoba) es una de las plantas con potencial medicinal y presente en abundancia en zonas tropicales. Arbusto perenne, erecto, ramificado, con raíz pivotante leñosa, peluda, marcada hasta 1 m de altura y que se reproduce a partir de sus semillas. El tallo es leñoso, redondeado y delgado, es fibroso y peludo, especialmente cuando es joven. Las hojas son simples y alternas mientras que la inflorescencia es solitaria y axilar con tallos de hasta 1.3 cm de largo articulados cerca de la mitad de su longitud. Las flores son amarillas con cinco pétalos y el fruto está encapsulado con 5 - 6 carpelos (Shittu.M et al., 2020).

La planta es originaria de México y América Central, pero se ha extendido por los trópicos y subtrópicos de América, Asia, África. Encuestas realizadas en lugares indígenas revelaron que la planta tenía muchos usos tradicionales que variaba de una región a otra. Los problemas de salud más citados son la fiebre, el dolor de cabeza y las enfermedades infecciosas (Uslay.S et al., 2021).

### 3.- JUSTIFICACIÓN

El tratamiento de enfermedades inflamatorias mediante el uso de fármacos esteroideos (AIEs) y no esteroideos (AINEs) es común en la práctica clínica. Sin embargo, el uso prolongado de estos medicamentos puede dar lugar a efectos adversos a largo plazo. Por esta razón, existe un creciente interés en buscar nuevas alternativas terapéuticas, una de estas se basa en el uso de plantas medicinales. Estas alternativas podrían ofrecer beneficios terapéuticos con menos efectos secundarios, lo que representa una alternativa para mejorar el manejo y tratamiento de enfermedades inflamatorias.

### 4.- OBJETIVOS

#### 4.1 Objetivo general

Evaluar en modelos *in vivo* e *in vitro* la actividad antiinflamatoria del extracto y fracciones de la especie vegetal *Sida acuta*.

#### 4.2 Objetivos específicos

1. Obtener el extracto orgánico de la especie vegetal *Sida acuta*.
2. Evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto obtenido mediante el modelo *in vivo*.
3. Realizar una separación biodirigida del extracto obtenido con actividad antiinflamatoria.
4. Evaluar la actividad antiinflamatoria en modelos *in vitro* de la fracción aislada del extracto activo de *Sida acuta*.

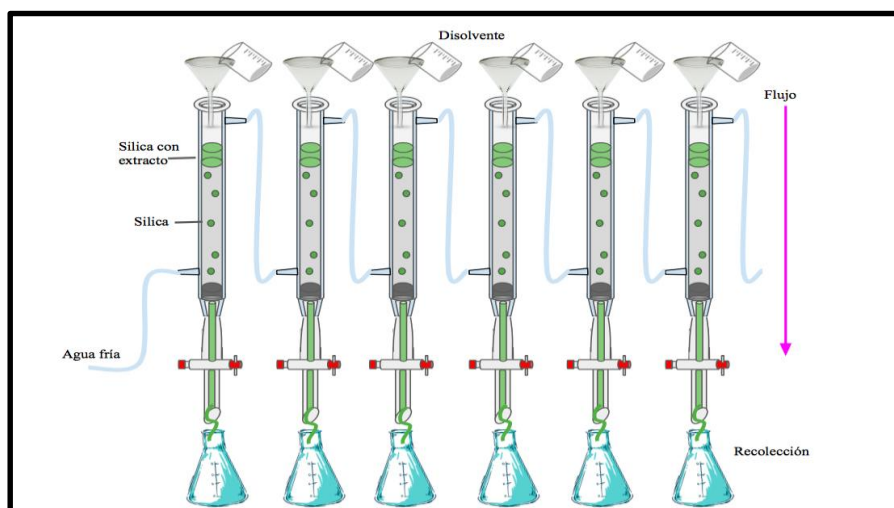
## 5.- METODOLOGÍA

### 5.1 Colecta de planta.

La especie vegetal *Sida acuta* se colectó en la carretera San Luis Potosí a Río Verde en el Ejido San Francisco en el estado de San Luis Potosí, México. La planta fue autenticada por el M. en C. Gabriel Flores Franco y un espécimen se depositó en el Herbario de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (HUMO39827). Se realizó una poda ecológica con las partes aéreas de la planta, es decir, flores, hojas y tallos, las cuales fueron secadas a la sombra y a temperatura ambiente, posteriormente fueron molidas y pesadas.

### 5.2 Método de extracción.

500 g de planta fueron macerados con 3600 mL de diclorometano, durante 5 días. Posteriormente la mezcla se filtró al vacío y el disolvente del filtrado se eliminó en un evaporador rotatorio al vacío, posteriormente el disolvente remanente se eliminó en una estufa de vacío a temperatura ambiente.



**Imagen 1.**- Fraccionamiento del extracto de diclorometano de la especie vegetal *Sida acuta* en columna de vidrio empacada con sílice gel.

### 5.3 Método de fraccionamiento.

El extracto con mayor actividad antiinflamatoria se separó mediante cromatografía en columna abierta, empacada con sílice gel 60, como fase estacionaria y una mezcla de disolventes de distintas polaridades como fase móvil. El primer disolvente empleado fue hexano, luego se incrementó la polaridad con acetato de etilo y finalmente, con metanol. El volumen de cada fracción obtenida se redujo en un evaporador rotatorio a presión reducida. Si durante este proceso se presenta precipitación de sólidos, estos serán filtrados, purificados y posteriormente caracterizados.

## 5.4 Evaluación de la actividad antiinflamatoria en modelos *in vivo* e *in vitro* del extracto y fracciones.

### 5.4.1 Modelo *in vivo*

Los animales utilizados para las pruebas *in vivo* fueron ratones macho cepa CD1 con un peso de 25 a 30 g, los cuales fueron proporcionados por la Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL) de la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco. Durante el experimento, los animales tuvieron acceso libre de alimento LabDiet y agua. Además, se mantuvieron en condiciones de periodos de exposición a la luz/oscuridad de 12 horas y una temperatura controlada entre 20-22 °C. La manipulación de los roedores se realizó de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, siguiendo específicamente las técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (UPAEL-UAM,2004).

#### 5.4.1.1 Ensayo de edema auricular agudo inducido por TPA en ratones CD1.

La actividad antiinflamatoria se evaluó en el edema auricular agudo en ratones, la inflamación fue inducida mediante la aplicación de 13-acetato de 12-O-decanoliforbol (TPA). Se utilizó la técnica descrita por De Young et al. 1989, en la cual se aplicó una solución de 2.5 µg de TPA en 20 µL de acetona, tanto en la parte exterior como interior de la oreja derecha de los ratones (10 µl en cada lado). Después de 30 minutos de la aplicación de TPA, se administraron 2 mg por oreja del tratamiento de prueba o indometacina (fármaco de referencia).

Transcurridas seis horas desde la administración de TPA, los ratones fueron sacrificados mediante dislocación cervical y se obtuvieron círculos de 6 mm de diámetro tanto de la oreja derecha como de la izquierda, para ser pesados y comparados entre cada grupo. La inflamación se cuantificó, calculando la diferencia de peso entre las dos orejas. La actividad antiinflamatoria se evaluó como el porcentaje de inhibición del edema en las orejas de los ratones tratados (Fórmula 1), Los grupos de prueba fueron comparados con el grupo control (Salas. K, 2019).El porcentaje de inhibición se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(Ct - C_0) \text{ control} - (Ct - C_0) \text{ tratado}}{(Ct - C_0) \text{ control}} \times 100$$

Dónde :

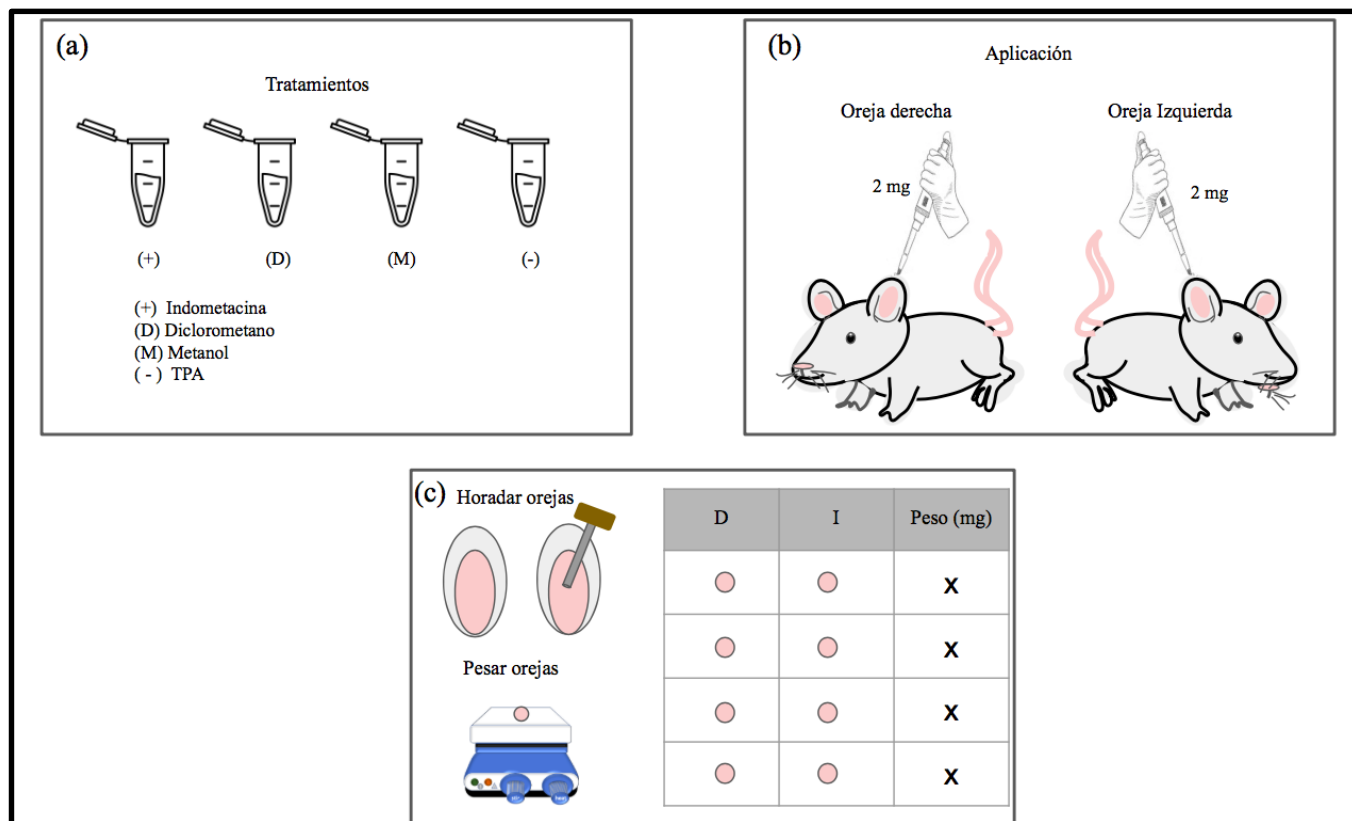
*Ct*=Peso del tejido horadado de la oreja tratada (derecha)

*C0*= peso del tejido horadado de la oreja sin tratamiento (izquierda)

*control*= control negativo (administrado únicamente con TPA)

*tratado*= grupo tratado con indometacina o con el extracto.

**Fórmula 1.** Para determinar el porcentaje de inhibición de la inflamación en el modelo de edema auricular de ratón inducido con TPA.



**Imagen 2.** Metodología del ensayo de edema auricular agudo inducido por TPA (modelo *in vivo*)  
(a) Grupos de prueba (b) Aplicación de grupos prueba (c) Pesaje de orejas.

## 5.4.2 Modelo *in vitro*

### Cultivo celular

Se cultivaron macrófagos J774A.1 en Medio Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) enriquecido 10% de Suero Fetal Bovino (SFB), y antibiótico (100 unidades/mL de penicilina y 100 µg/mL de estreptomina). Las células fueron incubadas en estufa a 37 °C con una atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub>. Cuando se obtuvo la confluencia suficiente se continuó con el ensayo de MTT y determinación de Óxido Nítrico (NO).

#### 5.4.2.1 Ensayo de Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT)

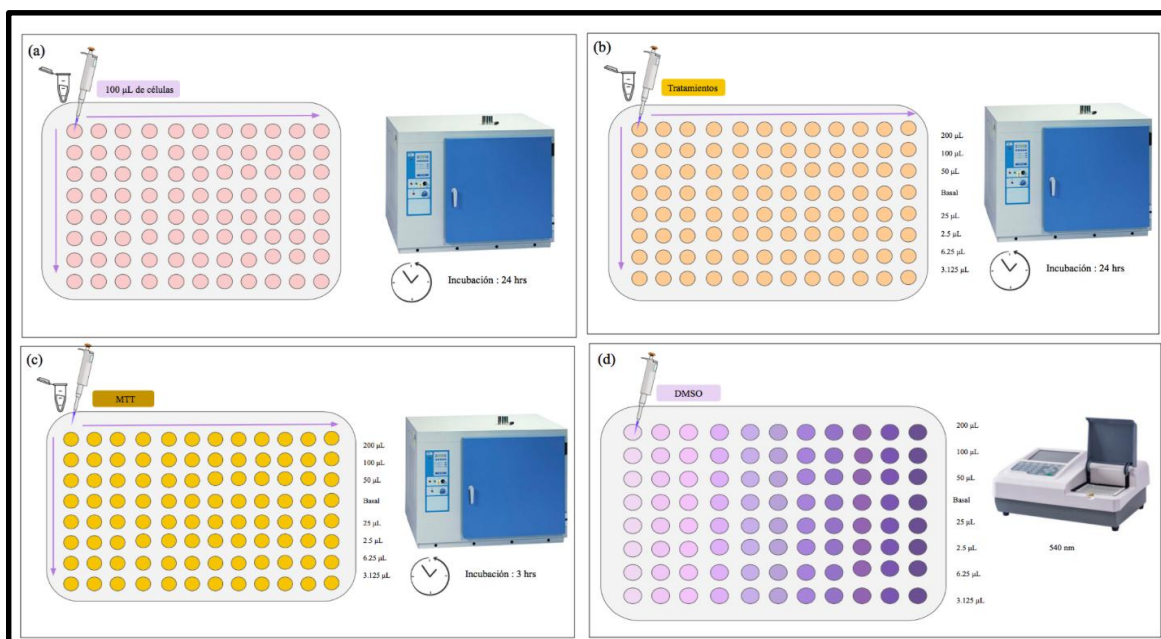
Para evaluar el efecto de los extractos o compuestos en la viabilidad celular se llevó a cabo el ensayo colorimétrico de MTT. En una placa de 96 pozos fueron sembrados 5000 células /pozo de macrófagos J774A.1, se incubaron durante 24 horas a 37°C con una atmósfera de 5 % de CO<sub>2</sub> para asegurar su adecuada adhesión y crecimiento. Una vez cumplido este periodo, se añadió el extracto de diclorometano a diferentes concentraciones (200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 12.5 µg/mL, 6.25 µg/mL y 3.125 µg/mL), incluyendo un

grupo de control basal que no recibió tratamiento. Las células se incubaron nuevamente a 37° C y 5% de CO<sub>2</sub> durante 48 horas.

Transcurrido este tiempo, se aplicaron 10 µL de una solución de MTT (5 mg/mL) por pozo, incubando durante un máximo de 2 horas a 37° C, con revisión a intervalos de una hora para observar la formación de cristales de formazan. Finalizando este proceso, se eliminó el líquido sobrenadante y se añadió 100 µL de Dimetil Sulfoxido (DMSO) en cada pozo para solubilizar los cristales. Finalmente, se midieron las absorbancias de las muestras utilizando un lector de microplacas a 540 nm y el porcentaje de viabilidad se calculó utilizando la fórmula 2:

$$\% \text{ Viabilidad} = \frac{DO \text{ células tratadas} \times 100}{DO \text{ células control}}$$

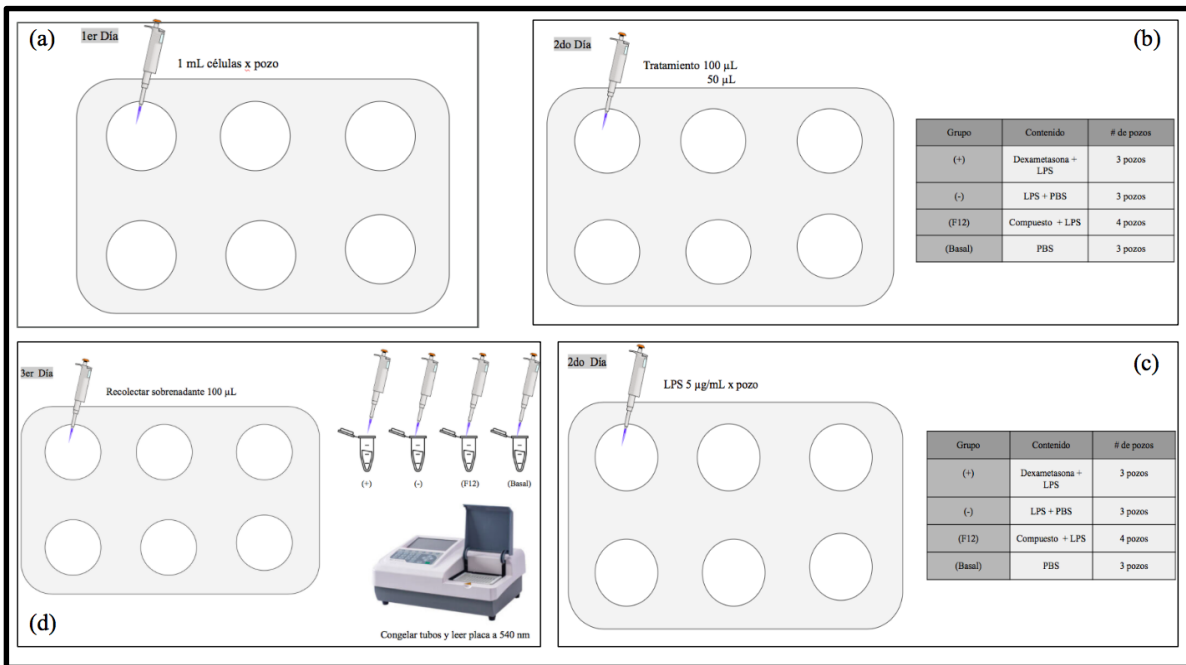
**Fórmula 2.** Porcentaje de viabilidad de las células tratadas a diferentes concentraciones de compuesto de prueba.



**Imagen 3.** Metodología para evaluar la viabilidad celular de la fracción activa de *Sida acuta*. Sembrar células **(b)** Colocación del tratamiento **(c)** Aplicación del MTT **(d)** Aplicación de DMSO.

### 5.4.2.1 Determinación de la producción de Óxido nítrico (NO) por macrófagos estimulados con LPS.

Macrófagos J774A.1 fueron sembrados en placas de 6 pozos (5 x 10<sup>5</sup> células /pozo) y se incubaron durante 24 horas a 37°C con una atmósfera de 5 % de CO<sub>2</sub>. Una vez completado ese periodo se colocaron los tratamientos, los grupos formados fueron: negativo (LPS), positivo (LPS + Indometacina), prueba (LPS + extracto/fracción/compuesto) y control basal (células sin tratamiento ni estímulo). Posteriormente los macrófagos fueron estimulados con 5 µg/mL de lipopolisacárido (LPS) y se incubaron 24 horas a 37°C con una atmósfera de 5 % de CO<sub>2</sub>. Transcurrido el tiempo sobre una placa de 96 pozos se colocaron 100 µL del sobrenadante de cada grupo y a cada pozo se le agregó 100 µL de reactivo de Griess. El tiempo de incubación para la muestra fue de 30 minutos a 37° C, posteriormente. Las absorbancias fueron medidas en un lector de ELISA a 540 nm. El porcentaje de NO de cada grupo se calculó considerando como 100% al grupo de LPS.



**Imagen 4.** Metodología de la evaluación de Óxido Nítrico.

- (a) Sembrar células (b) Colocar tratamientos (c) Estimulación con LPS  
(d) Recolección de sobrenadante.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Obtención del extracto y su evaluación antiinflamatoria

Mediante el proceso de maceración y evaporación, se obtuvo el extracto de diclorometano (EDSC), el cual presentó un rendimiento del 2.05 % con respecto a la planta. Posteriormente, este extracto fue sometido a pruebas biológicas con el fin de evaluar su potencial terapéutico.

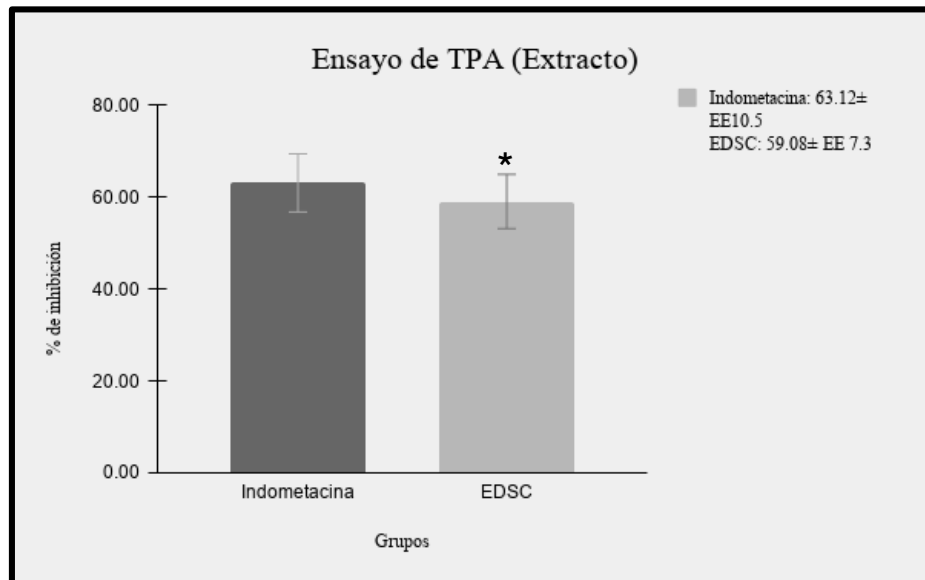
#### 6.1.1 Actividad antiinflamatoria del extracto de diclorometano.

Los resultados del ensayo de actividad antiinflamatoria aguda del extracto de diclorometano se presentan en la Tabla 3 y el Gráfico 1. Para esta evaluación se empleó el modelo de edema auricular inducido por TPA, un éster de forbol conocido por su capacidad para activar la proteína cinasa C (PKC) y promover la liberación de mediadores proinflamatorios (Vähätupa et al., 2019).

**Tabla 3.** Actividad antiinflamatoria aguda del extracto de diclorometano en modelo de edema auricular por TPA.

Tratamiento	% de inhibición ± EE
Indometacina (Positivo)	63.12± 10.5
Extracto de diclorometano (EDSC)	59.08± 7.3 *

Media ± EE (n=8); diferencia significativa \* p<0.05, contra el grupo indometacina.



**Gráfico 1.** Actividad antiinflamatoria aguda del extracto de diclorometano en modelo de edema auricular por TPA. Grupos: Positivo (indometacina), diclorometano (EDSC). Media ± EE (n=8); diferencia significativa p<0.05, contra el grupo control (indometacina).

El extracto de diclorometano (EDSC) mostró un porcentaje de inhibición del edema del  $59.08 \pm 7.3 \%$ , valor cercano al observado para el control positivo (indometacina) que presentó una inhibición del  $63.12 \pm 10.5 \%$ . El análisis estadístico no evidenció una diferencia significativa en comparación con el grupo control.

Estos resultados sugieren que el extracto posee actividad antiinflamatoria significativa, con un efecto similar al fármaco estándar, respaldando la presencia de compuestos bioactivos con potencial farmacológico.

El modelo de inflamación inducido por TPA es ampliamente utilizado para evaluar la actividad antiinflamatoria tópica de compuestos naturales, ya que reproduce los principales eventos bioquímicos de una respuesta inflamatoria aguda.

La significativa reducción del edema auricular observada tras la aplicación del extracto de diclorometano sugiere que este modula la vía inflamatoria activada por TPA, posiblemente mediante la inhibición de la PKC o la reducción de mediadores proinflamatorios. La magnitud de inhibición (59.08%) fue cercana a la obtenida con la indometacina (63.12%), lo que refuerza el potencial del extracto como agente antiinflamatorio natural.

Los resultados demuestran que el extracto de diclorometano posee actividad antiinflamatoria significativa, comparable al estándar de referencia. Por lo cual se continuó con el fraccionamiento del extracto para aislar los compuestos responsables de la actividad, así como realizar ensayos de citotoxicidad que nos permitieran confirmar su eficacia y seguridad.

## **6.2 Obtención de las fracciones y su evaluación antiinflamatoria**

La obtención de las fracciones se realizó mediante cromatografía en columna abierta empacada con sílica gel como fase estacionaria, con el objetivo de separar y purificar compuestos orgánicos polares y no polares presentes en el extracto de diclorometano de *Sida acuta*.

En la primera separación cromatográfica de EDSC se obtuvieron un total de 23 fracciones, posteriormente en la segunda separación de EDSC se obtuvieron 15 fracciones. El número de fracciones se redujo mediante cromatografía en capa fina, obteniendo finalmente 5 fracciones. (Tabla 5)

**Tabla 4.** Fracciones obtenidas de la segunda separación cromatográfica de EDSC.

No. de Fracción	Polaridad	Compuestos
1-2	80 % Hexano 20 % Acetato	-
3	75 % Hexano 25 % Acetato	Cristales blancos
4-5	70 % Hexano 30 % Acetato	-
6-7	60 % Hexano 40 % Acetato	-
8	50 % Hexano 50 % Acetato	-
9	100 % Acetato	-
10	90 % Acetato 10 % Metanol	-
11	80 % Acetato 20 % Metanol	-
12	50 % Acetato 50 % Metanol	Sólido amarillo
13	70 % Acetato 30 % Metanol	Sólido verde con cristales
14	60 % Acetato 40 % Metanol	-
15	100 % Metanol	-

**Dónde:** los guiones indican que no se presentaron compuestos.

Cada fracción fue concentrada a presión reducida para eliminar el disolvente y se observó la formación de sólidos.

**Tabla 5.** Fracciones finales obtenidas de la reducción por cromatografía en capa fina.

Nombre de fracción	Fracciones finales
<b>Fa1</b>	F5- 6-7-8
<b>Fa2</b>	F9-10-11
<b>Fa3</b>	F12-13 (Sólidos)
<b>Fa4</b>	F14-15

### 6.2.1 Actividad antiinflamatoria de las fracciones del extracto de diclorometano

Con el fin de identificar las fracciones con mayor potencial biológico, el extracto de diclorometano fue sometido a cromatografía en columna abierta, obteniéndose cuatro fracciones las cuales fueron analizadas en el modelo de edema auricular inducido por TPA.

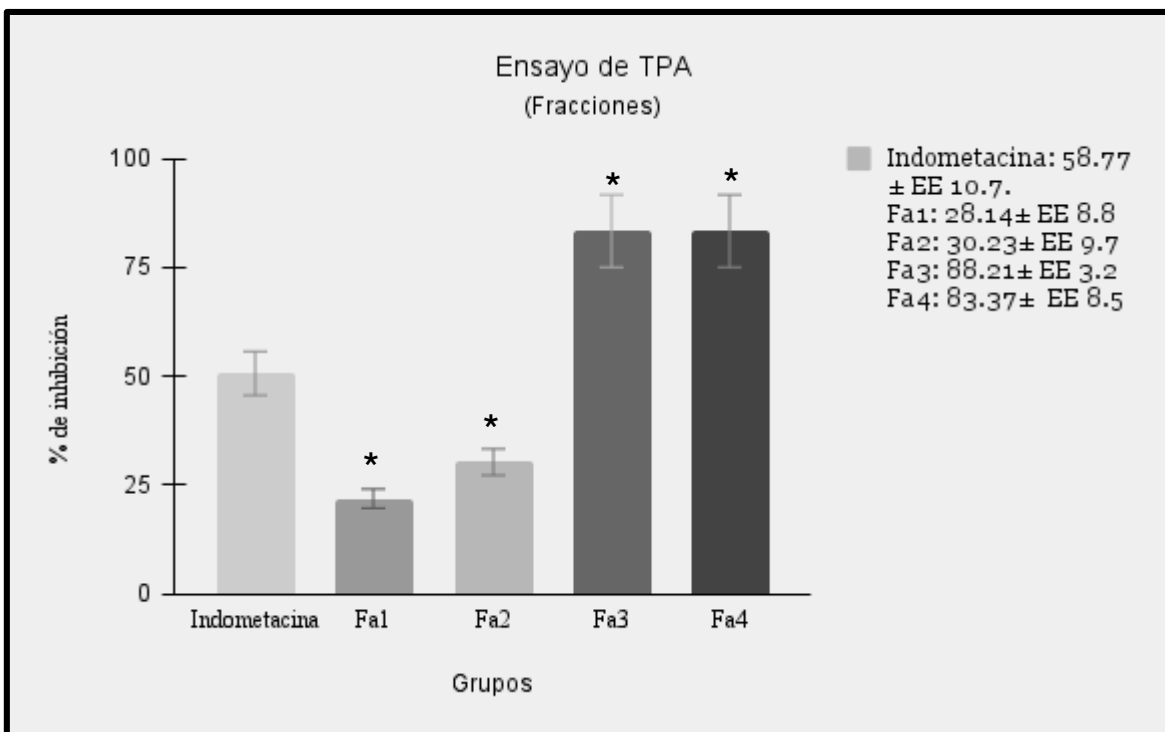
Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 6 y la Gráfica 2, donde se observan diferencias notorias entre las fracciones en términos de porcentaje de inhibición del edema.

**Tabla 6.** Actividad antiinflamatoria aguda de las fracciones del extracto de diclorometano en modelo de edema auricular por TPA

Grupos	% de inhibición ± EE
Indometacina	58.77± 10.7
Fa1	28.14± 8.8 *
Fa2	30.23± 9.7 *
Fa3	88.21± 3.2 *
Fa4	83.37± 8.5 *

Media ± EE (n=8); diferencia significativa \* p<0.05, contra el grupo indometacina

El análisis estadístico mediante ANOVA reveló diferencias significativas entre algunas fracciones ( $p < 0.05$ ). Las fracciones Fa1 ( $28.14 \pm 8.8\%$ ) y Fa2 ( $30.23 \pm 9.7\%$ ) mostraron inhibiciones de la inflamación moderadas, lo que sugiere una menor concentración de compuestos activos, mientras que las fracciones Fa3 ( $88.21 \pm 3.2\%$ ) y Fa4 ( $83.37 \pm 8.5\%$ ) presentaron porcentajes de inhibición superiores al control positivo ( $58.77 \pm 10.7\%$ ), evidenciando una actividad antiinflamatoria altamente significativa, entre estos grupos no presentaron diferencia significativa.



**Gráfico 2.** Actividad antiinflamatoria aguda de las fracciones del extracto de diclorometano en modelo de edema auricular por TPA.

Grupos: Indometacina (+); Fa1 (Fracciones 5- 6-7-8); Fa2 (Fracciones 9-10-11); Fa3 (Fracciones 12-13); Fa4 (Fracciones 14-15).

Media ± EE (n=8); diferencia significativa  $p < 0.05$ , contra grupo Indometacina.

El modelo de edema auricular inducido por TPA se basa en la activación de la PKC dérmica, lo que provoca la liberación de mediadores inflamatorios (Vähätupa et al., 2019). La inhibición observada en las fracciones Fa3 y Fa4 sugiere que los compuestos presentes en ellas actúan inhibiendo la cascada inflamatoria mediada por PKC, posiblemente al interferir en la producción o liberación de prostaglandinas y citocinas proinflamatorias. Estos resultados indican que los principios activos con mayor capacidad antiinflamatoria se encuentran concentrados en las fracciones Fa3 y Fa4.

### 6.2.2 Fracción F13

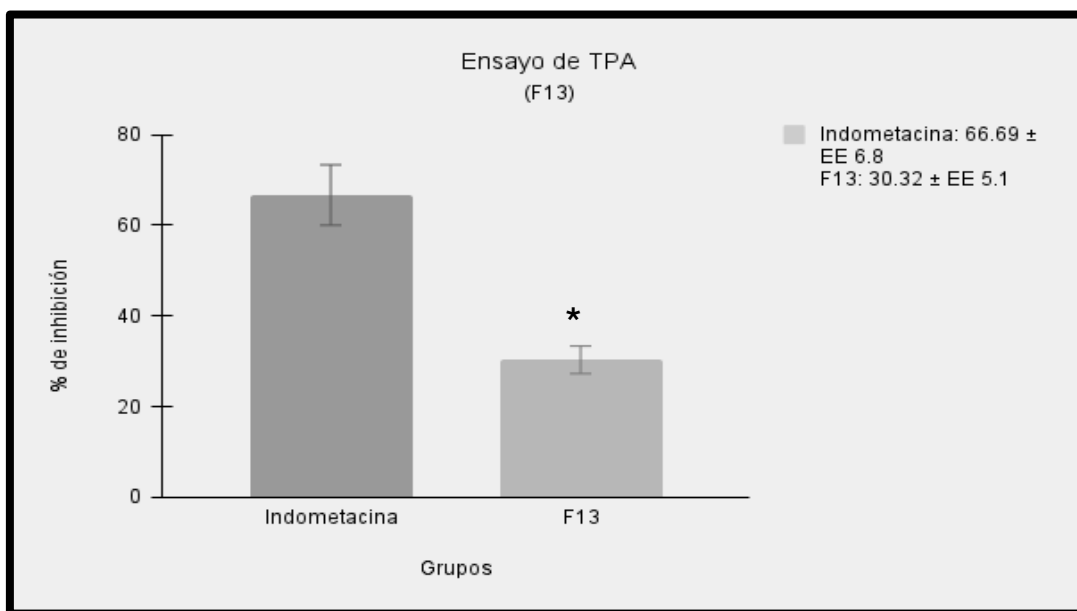
En la evaluación anterior, las fracciones Fa3 y Fa4 presentaron los mayores porcentajes de inhibición en el modelo de edema auricular inducido por TPA. Sin embargo, la fracción Fa3, compuesta por las subfracciones F12 y F13, mostró un porcentaje de inhibición ligeramente superior al de Fa4, sin diferencia estadísticamente significativa entre ambas según el análisis gráfico. Por lo que, se decidió evaluar por separado las fracciones F12 y F13, con el objetivo de determinar cuál de ellas presentaba mayor actividad antiinflamatoria (Tabla 7).

**Tabla 7.** Actividad antiinflamatoria aguda de la fracción F13 en modelo de edema auricular por TPA

Grupos	% de inhibición ± EE
Indometacina	66.69 ± 6.8
F13	30.32 ± 5.1*

Media ± EE (n=8); diferencia significativa  $p < 0.05$ , contra grupo control (indometacina)

El análisis mostró que el valor de inhibición obtenido para la fracción F13 ( $30.32 \pm 5.1\%$ ) fue considerablemente menor en comparación con el grupo de Indometacina ( $66.69 \pm 6.8\%$ ), lo que indica una baja actividad antiinflamatoria.



**Gráfico 3.** Actividad antiinflamatoria aguda de las F13 del extracto de diclorometano en modelo de edema auricular por TPA. Grupos: Indometacina (+), F13. Media ± EE (n=8); diferencia significativa  $p < 0.05$ , contra Indometacina)

En la Gráfica 3 se puede observar claramente esta diferencia, mostrando que la inhibición del edema producida por la fracción F13 es aproximadamente menos de la mitad del efecto alcanzado por la indometacina.

Los resultados obtenidos demuestran que la fracción F13 presenta una actividad antiinflamatoria significativamente menor con respecto al grupo indometacina y también comparado con la fracción Fa3 de la cual fue aislada F13. Esta reducción en la capacidad de inhibición del edema sugiere que los compuestos activos presentes en Fa3 se

concentran predominantemente en la fracción F12, mientras que F13 contiene menor cantidad o ausencia de dichos metabolitos bioactivos.

Además, esto podría deberse a la interacción entre dos o más compuestos que cuando juntan su acción producen un efecto mayor que individualmente. Es posible que la fracción Fa3 contenga varios metabolitos que actúan de manera sinérgica potenciando su actividad antiinflamatoria. Al separarse en subfracciones, como F12 y F13, dicha interacción podría perderse parcial o totalmente. De tal manera, aunque F13 pueda contener alguno de los compuestos activos, la ausencia de otros metabolitos complementarios impediría que se manifieste el efecto antiinflamatorio observado en la fracción original. Esto sugiere que la actividad biológica de Fa3 no depende únicamente de un compuesto aislado, sino de la interacción cooperativa entre varios constituyentes químicos presentes en la mezcla.

La menor eficacia observada podría deberse a diferencias en la composición química entre ambas subfracciones, posiblemente relacionadas con la polaridad y naturaleza estructural de los compuestos presentes. Este resultado comprueba la importancia de continuar con el aislamiento y caracterización de la fracción F12, ya que sería la responsable principal del efecto antiinflamatorio observado previamente en Fa3.

Debido al bajo porcentaje de inhibición y la limitada actividad biológica de la fracción F13, se decidió no continuar con estudios sobre esta fracción y concentrarse en el análisis químico y farmacológico de la fracción F12.

### **6.2.3 Fracción activa F12**

De la fracción F12, obtenida a partir del fraccionamiento del extracto de diclorometano, se aisló un compuesto amarillo, identificado preliminarmente como SD12. La actividad antiinflamatoria de este compuesto se evaluó mediante el modelo de edema auricular agudo inducido por TPA en ratones, con el propósito de confirmar si la actividad observada en la fracción original se debía a la presencia de este metabolito.

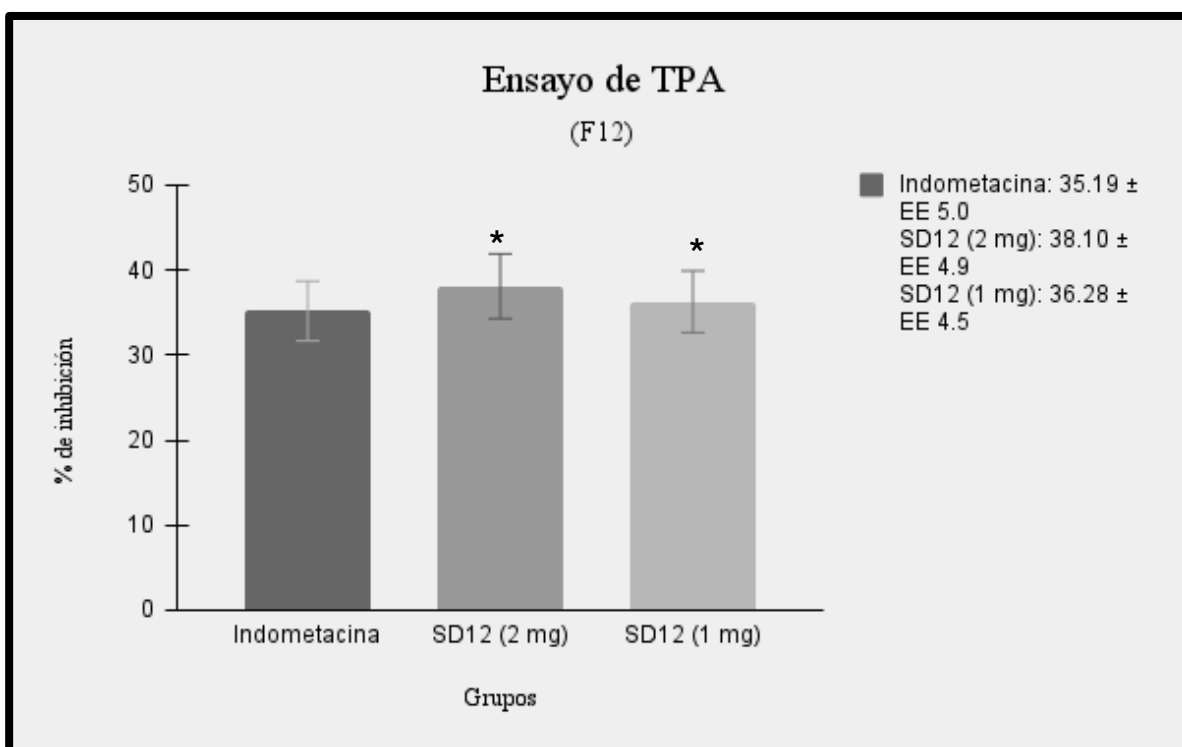
Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 8 y la Gráfica 4, donde se comparan los porcentajes de inhibición del edema entre los grupos tratados con SD12 (en dos dosis distintas) y el control positivo (indometacina).

**Tabla 8.** Actividad antiinflamatoria aguda de la fracción F12 en modelo de edema auricular por TPA

Grupos	% de inhibición ±EE
Indometacina	35.19 ± 5.0
SD12 (2 mg)	38.10 ± 4.9 *
SD12 (1 mg)	36.28 ± 4.5 *

Media ± EE (n=8); diferencia significativa \*p<0.05, contra grupo indometacina.

El análisis de varianza (ANOVA) mostró que todos los tratamientos evaluados (SD12 en ambas dosis) no presentaron diferencias significativas respecto al grupo control indometacina (35.19 ± 5.0%), lo que confirma la actividad antiinflamatoria del compuesto SD12.



**Gráfico 4.** Actividad antiinflamatoria aguda de las F12 del extracto de diclorometano en modelo de edema auricular por TPA.

Media ± EE (n=8); diferencia significativa p<0.05, contra grupo Indometacina.

Los valores de error estándar relativamente bajos indican una respuesta biológica homogénea y reproducible entre los animales tratados, lo cual refuerza la validez de los resultados. Los resultados de la fracción F12 confirman que el compuesto SD12 es el principal responsable de la actividad antiinflamatoria observada en las fracciones previas (Fa3 y F12). Posiblemente, la actividad antiinflamatoria de SD12 podría presentar un

mecanismo de acción, posiblemente asociado a la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX) y a la reducción en la síntesis de prostaglandinas, mediadores clave en la respuesta inflamatoria inducida por TPA. La ausencia de una diferencia significativa entre las dosis de 1 mg y 2 mg podría indicar que el compuesto alcanza su efecto máximo a dosis bajas, o bien que presenta un efecto dosis-independiente dentro del rango evaluado.

La comparación con la fracción F13, la cual mostró baja actividad ( $30.32 \pm 5.1\%$ ), comprueba la idea de que SD12 es el compuesto bioactivo predominante en la fracción F12 y el que presenta la actividad antiinflamatoria en el extracto de diclorometano.

### 6.3 Viabilidad

La viabilidad celular se determinó mediante el ensayo colorimétrico de MTT, el cual permite cuantificar la actividad metabólica de las células vivas a través de la reducción del MTT por las enzimas NADH/NADPH, produciendo cristales de formazán de color morado (López, 2019). De esta forma, la absorbancia medida es directamente proporcional al número de células viables en el cultivo (Facultad de Medicina, FUSM, 2008).

En el presente estudio, los macrófagos J774A.1 fueron expuestos a diferentes concentraciones de SD12 (0–200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) para evaluar su efecto citotóxico. Los resultados obtenidos (Tabla 9 y Gráfica 5) muestran una disminución progresiva en la viabilidad celular conforme aumenta la concentración del compuesto.

El análisis de regresión no lineal permitió calcular la concentración inhibitoria media ( $CI_{50}$ ), que fue de  $105.78 \pm 5.25 \mu\text{g}/\text{mL}$ . Este valor representa la concentración a la cual se esperaría que la viabilidad celular se redujera al 50 %. Sin embargo, en este caso, incluso a dicha concentración, más del 60 % de las células permanecieron viables, lo que sugiere una baja citotoxicidad del compuesto frente a los macrófagos J774A.1.

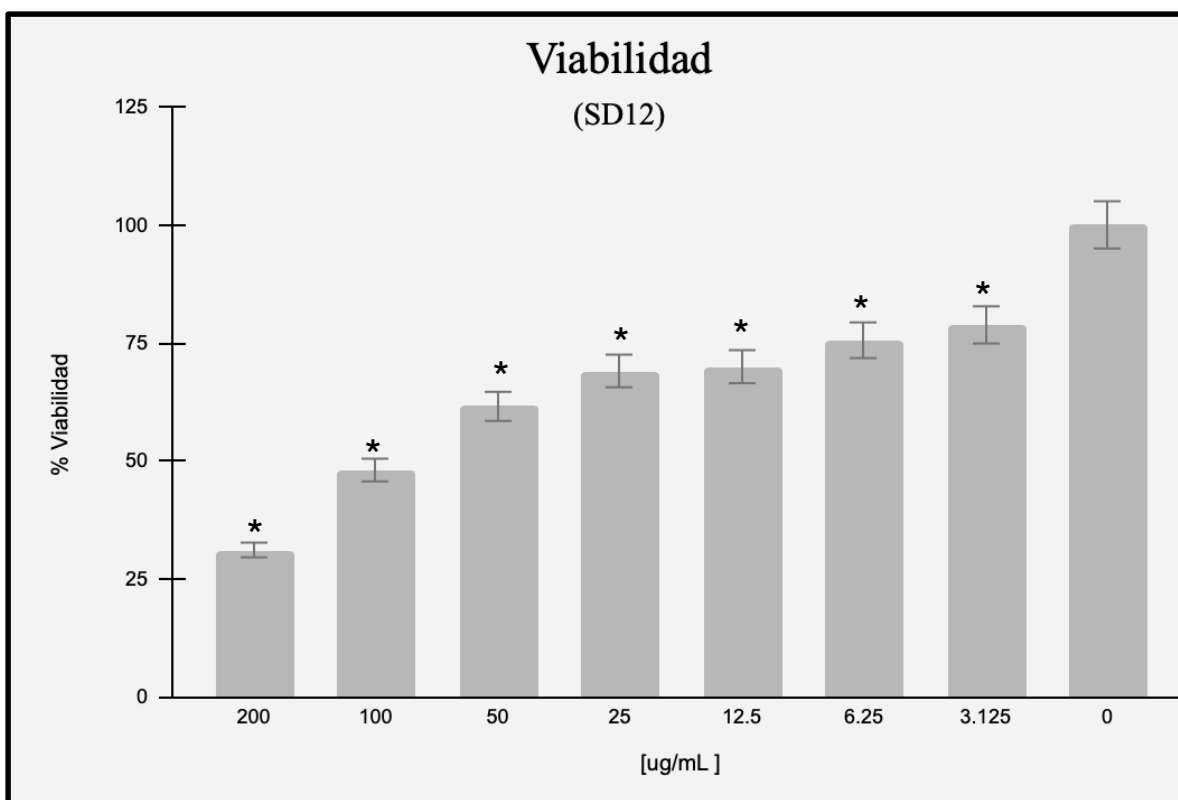
**Tabla 9.** Viabilidad de macrófagos J774A.1 tratados con SD12 (0-200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

Concentración ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	% Viabilidad
200	31.16*
100	48.08*
50	61.56*
25	69.07*
12.5	69.97*
6.25	75.57*
3.125	78.82*
0	100

Media  $\pm$  EE (n=8); diferencia significativa  $p < 0.05$ , contra grupo 0  $\mu\text{g}/\text{mL}$

El análisis estadístico (ANOVA de una vía) indicó diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las concentraciones más altas (150 y 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) en comparación con el control (0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), evidenciando un efecto dependiente de la dosis. Al contrario de las concentraciones inferiores a 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  no mostraron diferencias estadísticamente significativas, lo que respalda que el compuesto mantiene un margen de seguridad adecuado en ese rango de concentración.

En función de los resultados obtenidos, se seleccionó la concentración de 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  para los ensayos posteriores, ya que presentó un porcentaje de viabilidad de 69.07 %, valor que garantiza una adecuada supervivencia celular y permite evaluar la actividad biológica sin interferencia por toxicidad.



**Gráfico 5.** Viabilidad de macrófagos J774A.1 tratados con SD12 (0-200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )  
Media  $\pm$  EE (n=8); diferencia significativa  $p < 0.05$ , contra grupo 0  $\mu\text{g}/\text{mL}$

Los resultados del ensayo de viabilidad celular confirman que la fracción activa F12 (compuesto SD12) presenta baja citotoxicidad frente a la línea de macrófagos J774A.1. Esto es relevante, ya que la ausencia de toxicidad a concentraciones moderadas indica que el compuesto podría modular procesos inflamatorios sin comprometer la integridad de las células inmunes.

## 6.4 Evaluación de la producción de Óxido Nítrico

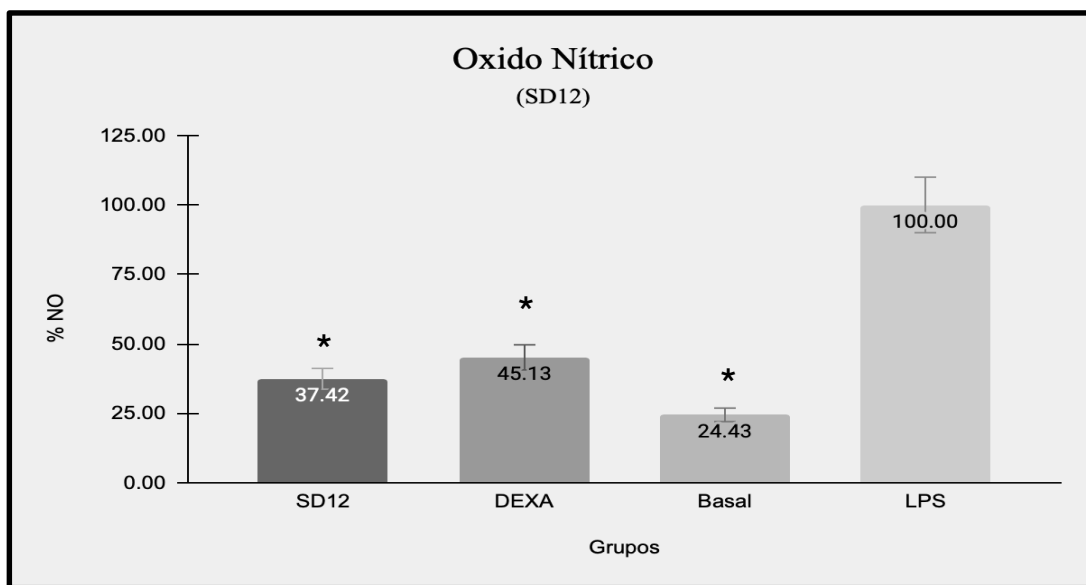
La producción de óxido nítrico (NO) fue evaluada mediante el método colorimétrico con el reactivo de Griess. Los valores promedio obtenidos (Media  $\pm$  EE, n=4) se muestran en la tabla 10.

**Tabla 10.** Porcentaje de producción de NO producido por macrófagos estimulados con LPS.

Grupos	% de producción NO $\pm$ EE
SD12	37.42 $\pm$ 0.039*
DEXA	45.13 $\pm$ 0.028*
Basal	24.43 $\pm$ 0.030*
LPS	100 $\pm$ 0.037

Media  $\pm$  EE (n=4); diferencia significativa \*  $p < 0.05$ , contra grupo LPS.

El análisis de varianza (ANOVA de una vía) mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales ( $p < 0.05$ ). La evaluación indica que tanto la dexametasona (fármaco de referencia) como el compuesto SD12 disminuyeron significativamente la producción de NO comparado con el grupo LPS, mientras que el grupo basal presentó los niveles más bajos ya que no fueron estimulados con LPS.



**Gráfica 6.** Porcentaje de producción de NO producido por macrófagos estimulados con LPS. Tratados con SD12. Media  $\pm$  EE (n=4); diferencia significativa \*  $p < 0.05$ , contra grupo LPS.

La producción de óxido nítrico es un proceso clave en la respuesta inflamatoria mediada por macrófagos. En condiciones normales, estas células producen bajas concentraciones de NO para mantener funciones fisiológicas; sin embargo, al ser estimuladas con LPS, se activa la enzima óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), incrementando de manera notable la síntesis de NO, lo que contribuye al desarrollo del proceso inflamatorio (Benavides y Pinzón, 2008).

En este estudio, el grupo LPS mostró el mayor porcentaje de producción de NO (100%), confirmando la activación de los macrófagos y la instauración del proceso inflamatorio. Por otro lado, la dexametasona, un fármaco antiinflamatorio esteroideo utilizado como control positivo, redujo la producción de NO a 45.13%, lo cual concuerda con su capacidad de inhibir la expresión de la iNOS y, por tanto, disminuir la síntesis de NO (gráfica 6) (Lamas et al., 1995).

Mientras que el tratamiento con el compuesto SD12 provocó una disminución aún mayor en la producción de NO (37.42%), mostrando una actividad inhibitoria superior a la de la dexametasona (gráfica 6). Este resultado sugiere que SD12 posee una potente acción antiinflamatoria, posiblemente mediada por la modulación de vías de señalización asociadas a la activación de iNOS o la inhibición del factor de transcripción NF- $\kappa$ B, responsable de inducir la expresión de mediadores proinflamatorios. El grupo basal, que no fue estimulado con LPS, presentó un nivel de producción de NO de 24.43%, reflejando la producción fisiológica de este radical en ausencia de estímulo inflamatorio.

El compuesto SD12 redujo significativamente la producción de óxido nítrico en macrófagos estimulados con LPS, con una inhibición mayor a la observada con dexametasona. Estos resultados sugieren que SD12 posee actividad antiinflamatoria.

## **7. CONCLUSIÓN**

Los resultados obtenidos en esta investigación demostraron que la especie vegetal *Sida acuta* posee compuestos con actividad antiinflamatoria significativa. Se recomienda realizar estudios más detallados para profundizar en el mecanismo de acción del compuesto activo y emplear modelos biológicos complementarios que confirmen su efecto. Asimismo, se sugiere efectuar análisis espectroscópicos que permitan la elucidación estructural del compuesto SD12, con el fin de sustentar su potencial como agente antiinflamatorio.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Araujo, Z. (2024). *Respuesta inflamatoria*. Cátedra de Inmunología, Escuela de Medicina “José María Vargas”. Recuperado de <https://inmunojmvucv.wordpress.com/wp-content/uploads/2024/02/tema-9-inflamacion-2024.pdf>
2. Benítez, M. (2020). *Cromatografía en capa fina y en columna*. Universidad Simón Bolívar. Recuperado de <http://bonga.unisimon.edu.co/bitstream/handle/20.500.12442/7984/Gu%C3%ADa%20de%20Cromatograf%C3%ADa%20en%20capa%20fina%20y%20por%20columna.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
3. Benavides, M., & Pinzón, A. (2008). Óxido nítrico: Implicaciones fisiopatológicas. *Revista Colombiana de Anestesiología*, 36(1). Recuperado de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-33472008000100007](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-33472008000100007)
4. Bordés, R., Martínez, M., & García, E. (2010). *El proceso inflamatorio*. Universidad de Granada, Departamento de Enfermería y Fisioterapia, Escuela Universitaria de Ciencias de la Salud. Recuperado de <https://ruidera.uclm.es/server/api/core/bitstreams/59f94018-746c-47f7-a682-652b9d460e3b/content>
5. Consolini, A., Ragone, M., & Colareda, G. (2023). *Fitoterapia: Farmacología experimental y clínica de las plantas medicinales* (1.ª ed.). Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Exactas. Recuperado de [https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/160266/Documento\\_completo.pdf?sequence=1](https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/160266/Documento_completo.pdf?sequence=1)
6. Elsevier. (s. f.). *Kumar et al.: Robbins Basic Pathology* (8.ª ed.). Recuperado de [www.studentconsult.com](http://www.studentconsult.com)
7. Esperanza-Regueras, E., Velázquez, I., & Torres, L. (2024). Actualización en farmacología de los antiinflamatorios no esteroideos: actualización. *Revista de la Sociedad Española Multidisciplinar del Dolor*. <https://doi.org/10.20986/mpj.2024.1059/2023>
8. Facultad de Medicina, Fundación Universitaria San Martín. (2008). *Pruebas de tamizaje para determinar efectos citotóxicos en extractos, fracciones o sustancias, utilizando la prueba del MTT*. Fundación Universitaria San Martín. Recuperado de [https://publications.iupac.org/publications/cd/medicinal\\_chemistry/Practica-IV-2.pdf](https://publications.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/Practica-IV-2.pdf)
9. Franco, L., Matiz, G., et al. (2007). Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones obtenidas de cálices de *Physalis peruviana* L. *Biomédica*, 27, 110–115. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/bio/v27n1/v27n1a10.pdf>
10. García, P. (2008). *Inflamación*. X Programa de Promoción de la Cultura Científica y Tecnológica. *Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (España)*, 102(1), 91. Recuperado de <https://rac.es/ficheros/doc/00681.pdf>

11. González, M., & Padrón, A. (2019). La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la medicina en el siglo XXI. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 18(1), 30–44. Recuperado de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1729-519X2019000100030](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2019000100030)
12. Jiménez, J. (2020). La medicina tradicional herbolaria como base de la medicina científica. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 25(2), e1032. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubplamed/cpm-2020/cpm202a.pdf>
13. Keb, A. (2022). Mecanismo de los AINES y antiinflamatorios derivados para el control del dolor y la inflamación: Uso de antiinflamatorios en odontología. *Revista AD*, 79(1), 38–47. <https://doi.org/10.35366/103817>
14. López, E. (2019). *Métodos para determinar la viabilidad celular con aplicación en odontología* [Tesis de licenciatura, Universidad San Martín de Porres]. Facultad de Odontología. Recuperado de [https://repositorio.usmp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12727/5143/lopez\\_aem.pdf?sequence=3](https://repositorio.usmp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12727/5143/lopez_aem.pdf?sequence=3)
15. López, M. (2010). *Estudio de la respuesta inmunológica celular obtenida al exponer células de ratones Balb/c a extractos del alga parda *Macrocystis pyrifera** [Tesis de maestría, CICESE]. Ensenada, Baja California. Recuperado de <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/498/1/185521.pdf>
16. Lamas, S., Rodríguez, D., Rodríguez, M., & Saura, M. (1995). Papel de los glucocorticoides en la regulación de la actividad y la expresión de la óxido nítrico sintetasa inducible en células mesangiales de rata. *Nefrología*, 15(5), 403–512. Recuperado de <https://revistanefrologia.com/es-papel-los-glucocorticoides-regulacion-actividad-expresion-oxido-nitrico-sintetasa-inducible-articulo-X0211699595007785>
17. Maldonado, D., Segovia, L., et al. (2024). Efectos adversos de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos: Artículo de revisión. *LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades*, 5(1), 1735–1749. <https://doi.org/10.56712/latam.v5i1.1706>
18. Material elaborado por el personal académico de las Coordinaciones de Enseñanza y Evaluación de Inmunología, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. (2022). *Mediadores de la inflamación*. Recuperado de <http://biosensor.facmed.unam.mx/wp-content/uploads/2023-Mediadores-de-la-inflamacion.pdf>
19. Méndez, A., Penieres Carrillo, J., & Ortega, F. (2023). *Cromatografía en capa fina y columna* [Monografía]. Departamento de Ciencias Químicas, Sección de Química Orgánica, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. Recuperado de <https://ru.cuautitlan.unam.mx/retrieve/16449c20-525d-4885-8526-9b526f0e937b>
20. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2013). *NORMA Oficial Mexicana NOM-165-SEMARNAT-2013, Que establece la lista de sustancias sujetas a reporte para registro de emisiones y transferencias de contaminantes*. Diario Oficial de la Federación. Recuperado de [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5313191&fecha=24/01/2013](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5313191&fecha=24/01/2013)

21. Prieto, J. (2007). Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). ¿Dónde estamos y hacia dónde nos dirigimos? (Primera parte). *Científica Dental*, 4(3), 203–212. Colegio Oficial de Odontólogos y Estomatólogos de Madrid. Recuperado de [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/49673627/3\\_AINES\\_DONDE\\_ESTAMOS\\_Y\\_HACIA\\_DONDE\\_NOS\\_DIRIGIMOS-libre.pdf](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/49673627/3_AINES_DONDE_ESTAMOS_Y_HACIA_DONDE_NOS_DIRIGIMOS-libre.pdf)
22. Robbins, S. L., & Cotran, R. S. (2017). *Compendio de patología estructural y funcional* (9ª ed.). Elsevier. Recuperado de [https://medicina2023.wordpress.com/wp-content/uploads/2020/03/compendio-de-robbins-y-cotran-patologia-estructural-y-funcional-9a-edicion\\_booksmedicos.org .pdf](https://medicina2023.wordpress.com/wp-content/uploads/2020/03/compendio-de-robbins-y-cotran-patologia-estructural-y-funcional-9a-edicion_booksmedicos.org .pdf)
23. Rodríguez-Lago, I., Mesonero, F., et al. (2022). Self-medication with analgesics reported by patients with ulcerative colitis: An anonymous survey. *Gastroenterología y Hepatología*, 45(6), 457–463. <https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2021.07.009>
24. Salazar, J. (2011). *Determinación del efecto antiinflamatorio de peniocerol y chichipegenina aislados de Myrtillocactus geometrizans* [Tesis de doctorado, Universidad Nacional Autónoma de México]. Instituto de Química. Recuperado de [http://rdu.iquimica.unam.mx/bitstream/20.500.12214/577/1/Rodrigo\\_Salazar\\_tesisD\\_2011.pdf](http://rdu.iquimica.unam.mx/bitstream/20.500.12214/577/1/Rodrigo_Salazar_tesisD_2011.pdf)
25. Salaz, K. (2019). *Determinación de la actividad antiinflamatoria de Salvia ballotiflora Benth* [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco]. Recuperado de <https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/bitstream/123456789/26015/1/cbs1972818.pdf>
26. Sánchez, P., Dután, F., et al. (2024). Revisión bibliográfica sobre automedicación con antiinflamatorios no esteroideos en la población. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 8(1). [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v8i1.9425](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i1.9425)
27. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2021). *Plantas medicinales de México: La botica más surtida del país, enriquecida con la sabiduría de pueblos y comunidades indígenas*. Recuperado de <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/plantas-medicinales-de-mexico>
28. Serra, H., Roganovich, J., & Rizzo, L. (2012). Glucocorticoides: Paradigma de medicina traslacional de lo molecular al uso clínico. *Medicina (Buenos Aires)*, 72, 158–170. Recuperado de <https://www.medicinabuenosaires.com/PMID/22522860.pdf>
29. Shittu, M. (2020). Phyto-nutritional profiles of broom weed (*Sida acuta*) leaf extract. *International Journal on Integrated Education*, 3(11), 119–124. Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/347603083\\_PHYTO-NUTRITIONAL\\_PROFILES\\_OF\\_BROOM\\_WEED\\_SIDA\\_ACUTA\\_LEAF\\_EXTRACT](https://www.researchgate.net/publication/347603083_PHYTO-NUTRITIONAL_PROFILES_OF_BROOM_WEED_SIDA_ACUTA_LEAF_EXTRACT)
30. Soria, N. (2018). Las plantas medicinales y su aplicación en la salud pública. *Revista de Salud Pública del Paraguay*, 8(1). <https://doi.org/10.18004/rspp.2018.junio.7-8>. Recuperado de [http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2307-33492018000100007](http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2307-33492018000100007)

31. Tarantino, C. (s.f.). *Coagulation cascade*. Osmosis. Recuperado de <https://www.osmosis.org/answers/coagulation-cascade>
32. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, División de Ciencias Biológicas y de la Salud. (n.d.). *Manual de procedimientos de la Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL-Bioterio)*. Recuperado el 10 de agosto de 2023 de <https://www3.xoc.uam.mx/sites/default/files/pdf/bioterio/manual-procedimientos-upeal-bioterio.pdf>
33. Uysal, S., Gevrenova, R., Ibrahime, K., *et al.* (2021). New perspectives into the chemical characterization of *Sida acuta* Burm. f. extracts with respect to its anti-cancer, antioxidant and enzyme inhibitory effects. *Process Biochemistry*, 105, 91–101. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.03.028>
34. Vähätupa, M., Pemmari, T., Junntila, I., Pesu, M., & Järvinen, T. (2019). Chemical-induced skin carcinogenesis model using dimethylbenz[a]anthracene and 12-O-tetradecanoyl phorbol-13-acetate (DMBA-TPA). *Journal of Visualized Experiments*, (154), 103–105. <https://doi.org/10.3791/60305>
35. Yattoo, M. I., Gopalakrishnan, M., Saxena, A., Parray, O., Tufani, N., Chakraborty, S., Tiwari, R., Dhama, K., & Iqbal, H. (2018). Anti-inflammatory drugs and herbs with special emphasis on herbal medicines for countering inflammatory diseases and disorders: A review. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery*, 12(1), 39–58. <https://doi.org/10.2174/1872213X12666180115153635>
36. Zambrano, D. (2022). *Inflamación*. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Medicina, Escuela de Medicina José María Vargas, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Cátedra de Inmunología. Recuperado de <https://inmunojmvucv.wordpress.com/wp-content/uploads/2022/09/inflamacion-d.-zambrano.pdf>