

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Departamento de Sistemas Biológicos

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Proyecto Genérico: Obtención de Materias primas, principios activos, medicamentos y productos biológicos.

Etapas: Extracción de principios activos y sustancias auxiliares a partir de productos naturales.

Determinación de lectinas con propiedades antimicrobianas de Capitaneja (*Verbesina crocata*).

ELABORADO POR:

JOHANNA MARTÍNEZ OCAMPO

Matricula:2203058022

Fecha de inicio: 26-Marzo-2024

Fecha término: 29-Septiembre-2024

ASESOR


M. en C. Francisco López Naranjo

Lugar de realización: Lab N-109, UIDIS

CDMX, Febrero de 2025

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
JUSTIFICACIÓN.....	4
MARCO TEÓRICO.....	4
Medicina tradicional mexicana.....	4
Árnica Capitaneja (Verbescina crocata).....	5
Lectinas.....	7
OBJETIVOS.....	8
General:.....	8
Específicos:.....	8
METODOLOGÍA.....	8
Obtención y preparación del material vegetal.....	8
Extracción de lectinas.....	8
Preparación de soluciones requeridas.....	8
Buffer de Fosfatos pH 7.4.....	8
Solución de ácido tricloroacético al 50%.....	9
Técnica de Entlicher.....	9
Maceración del material vegetal.....	9
Cuantificación de proteínas totales.....	10
Método de Lowry.....	10
Reactivo A.....	10
Reactivo B1.....	10
Reactivo B2.....	10
Reactivo C (Reactivo de Lowry).....	10
Solución patrón de albúmina bovina a 1 mg/mL.....	11
Reactivo de Folin-Ciocalteau al 33%.....	11
Curva de calibración con albúmina bovina (1 mg/mL).....	11
Tratamiento de muestra.....	12
Cálculos para obtener la concentración de proteínas.....	12
Prueba cualitativa para identificar lectinas (Hemaglutinación).....	12
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	13
Obtención y preparación de material vegetal.....	13
Caracterización de los extractos obtenidos.....	13
Cuantificación de proteínas totales (Método Lowry).....	16
Identificación de lectinas.....	18
Propiedades antimicrobianas de las lectinas extraídas de capitaneja.....	20
CONCLUSIONES.....	20
BIBLIOGRAFÍA.....	22

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han sido una de las alternativas más usadas en toda Latinoamérica, pero el uso de estas se remonta a las costumbres y tradiciones de los pueblos indígenas, buscando la manera de tratar ciertos padecimientos. Existe una variedad muy extensa de plantas medicinales alrededor de los 70,000 ejemplares de las cuales solo el 10% de esta han sido identificadas las sustancias bioactivas responsables de la actividad terapéutica. Es por ello que en la actualidad se busca identificar las sustancias y explicar la actividad que estas realizan dentro del organismo para poder tener el efecto terapéutico.

Un gran ejemplo de estas plantas es el árnica capitaneja, planta que cuenta con lectinas un tipo de proteínas presentes en casi todos los seres vivos capaces de tener muchísimas funciones como tener actividad antimicrobiana que puede ser auxiliar en el tratamiento de heridas.

En este trabajo se busca realizar una revisión bibliográfica y así poder proponer una metodología con la cual se logren extraer a las lectinas de las partes aéreas de la capitaneja así mismo corroborar la actividad antimicrobiana que esta puede ofrecer contra algunos microorganismos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las plantas medicinales son aquellas que contienen en ella alguna sustancia bioactiva que en dosis suficientes producen un efecto terapéutico.

Tienen origen en los pueblos indígenas, ya que como parte de su historia y cultura las usaban como una alternativa al tratamiento de diversos padecimientos.

Existe una amplia diversidad de especies de plantas medicinales, pero se cuenta con muy poca información que asegure como actúa dentro del organismo. Es por ello por lo que el estudio sobre las plantas medicinales se centra en encontrar las sustancias bioactivas responsables de la actividad farmacológica. Un ejemplo de estas plantas medicinales es la capitaneja, se reporta que cuenta con actividad antimicrobiana y ha sido auxiliar en la cicatrización de heridas, investigaciones recientes mencionan que esta actividad es por la presencia de lectinas.

Las lectinas son proteínas no inmunológicas, que se encuentran distribuidas en la naturaleza, por ejemplo, las podemos encontrar en seres humanos, animales, plantas, entre otros. Estas poseen la habilidad de interactuar específica y reversiblemente con diversas biomoléculas, por ejemplo, pueden reconocer y ligar a carbohidratos específicos.

Es por ello por lo que es importante identificar la presencia de lectinas en diferentes extractos realizados con las partes aéreas de la capitaneja y corroborar la actividad antimicrobiana y así proponer el uso de la capitaneja como auxiliar en el tratamiento de heridas.

JUSTIFICACIÓN

Este trabajo de investigación se justifica en la necesidad de conocer la presencia de lectinas en la capitaneja, así mismo proponer un procedimiento de extracción que sirva como evidencia para la obtención de estas moléculas. Para en un futuro poder entender de manera más certera el mecanismo de acción farmacológico que ofrece, además de corroborar la actividad antimicrobiana que ofrece en comparación de antibióticos.

MARCO TEÓRICO

Medicina tradicional mexicana

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) la medicina tradicional es la suma de los conocimientos, habilidades y prácticas basadas en las teorías, creencias y experiencias indígenas de diferentes culturas, explicables o no, que se utilizan en el mantenimiento de la salud y la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas y mentales.

Estos conocimientos han sido ordenados en una visión del mundo (Cosmovisión) que pone énfasis en la totalidad de las cosas, en la relación de las personas y los seres vivos con la naturaleza, las divinidades, el cosmos y en el equilibrio entre diferentes elementos y conceptos que se manifiestan físicamente en el organismo (Secretaría de Salud, 2024).

La medicina tradicional de los pueblos originales y de las comunidades rurales de nuestro país, hace referencia al enorme legado de conocimientos que estos pueblos a través de su experiencia directa, al atender los padecimientos sufridos en sus comunidades y haciendo uso

de los recursos disponibles en su entorno natural, llámense estas plantas, animales, minerales, e incluso elementos míticos propios de su idiosincrasia, adquirieron a fin de dar respuesta a las necesidades de salud de sus habitantes. (García y González, 2015).

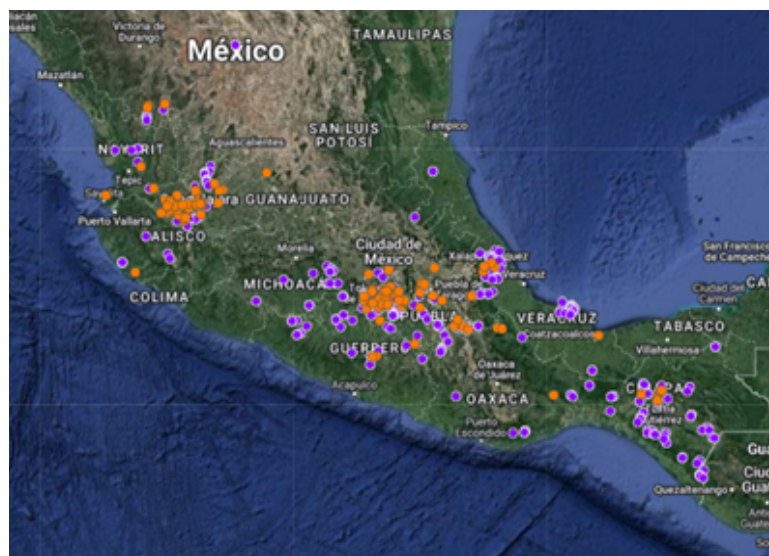
Actualmente, cada vez más gente se suma al uso de plantas no sólo para mejorar la salud sino también para recuperar los conocimientos de la medicina natural, porque siempre se ha sabido que el uso de plantas es una buena forma de prevenir enfermedades, complementando los beneficios con una buena alimentación y algo de ejercicio. México goza de una gran diversidad vegetal y amplia riqueza en biodiversidad lo que ha favorecido el aprovechamiento de las plantas con fines medicinales desde épocas prehispánicas, este patrimonio cultural se ha transmitido de generación en generación, de forma que algunas costumbres siguen siendo ejercidas de manera cotidiana hasta ahora, tanto en áreas rurales como urbanas. (Secretaría De Agricultura Y Desarrollo Rural, 2020)

Árnica Capitaneja (*Verbesina crocata*)

Un ejemplo de una planta utilizada en la medicina tradicional es la árnica capitaneja (*Verbesina crocata*) también llamada chimal Acatlán, chimal acaxochitl, hierba del campo u árnica. Es un arbusto nativo de México componente de las selvas bajas y vegetación perturbada del occidente.

Ha sido utilizada por los pueblos indígenas de América del Sur durante siglos para tratar una variedad de dolencias. Tiene una distribución geográfica a lo largo del occidente, estados del centro y suroeste de México como se observa en la Figura 1.

Figura 1. Distribución geográfica de la distribución geográfica de la *Verbesina crocata*.



Es una especie que cuenta con la peculiaridad de soportar los distintos climas, lo cual le beneficia pues ha podido mantenerse en diferentes lugares de todo el mundo. Habita en climas cálido, semicálido y templado desde los 600 hasta los 1000 msnm. Asociado a bosques tropicales caducifolio, subcaducifolio y perennifolio, bosque espinoso, bosque mesófilo de montaña, bosques de encino y de pino. Pertenece a las siguientes categorías taxonómicas superiores según Cronquist.; de acuerdo con la Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Verbesina crocata*.

REINO	Plantae
SUBGÉNERO	Tracheobionta (Plantas vasculares)
SUPERVISIÓN	Spermatophyta (Plantas con semillas)
DIVISIÓN	Magnoliophyta (Plantas con flor)
CLASE	Asteridae
ORDEN	Asterales
GÉNERO	<i>Verbesina</i>

De acuerdo con la publicación de Reyes; la capitaneja es utilizada contra enfermedades gastrointestinales, problemas ginecológicos, cáncer, cefaleas, como antipirético, antitumoral, antioxidante, etc. (Reyes, 2014)

García y colaboradores en 2020 mencionan que las partes aéreas se utilizan en la medicina tradicional para el tratamiento de heridas y quemaduras.

Por otro lado, en algunos lugares se ha utilizado durante mucho tiempo en forma de decocción o batido principalmente para tratar enfermedades renales, como agente diurético y otras dolencias como la diabetes. (Pérez et al., 1984).

Actualmente no se tiene definido con claridad cuáles son los principios activos o sustancias bioactivas encargadas de los múltiples efectos del consumo de la capitaneja. Sin embargo, la evidencia bibliográfica resalta los posibles agentes causantes del efecto.

El primero de ellos corrobora la presencia y especificidad de las lectinas del extracto crudo y fracción sin pigmentos de esta planta con los cuatro grupos sanguíneos humanos (A1, A2, B y O) con una mayor afinidad con el grupo B. (Reyes, 2014)

Lectinas

El término lectina se aplica a proteínas o glicoproteínas de origen no inmune que reconocen de manera específica carbohidratos de la superficie celular o en suspensión, aglutinan células y precipitan glicoconjugados. Las lectinas no poseen actividad enzimática y no son producto de una respuesta inmune. Estas proteínas se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y han sido identificadas en diversos organismos como virus, bacterias, hongos, plantas, así como en vertebrados superiores. (Cruz et al., 2005)

En este caso nos centraremos en las lectinas de las plantas, estas se encuentran principalmente en hojas, tallos, corteza y frutos. Sin embargo, se considera que las lectinas se encuentran en mayor cantidad en las hojas y corteza, y que la concentración de lectinas varía de acuerdo a las diferentes partes del vegetal y entre una especie y otra. (Vázquez et al., 2012)

Las lectinas vegetales con actividad antibacteriana interactúan con peptidoglicanos, lipopolisacáridos u otras moléculas presentes en las paredes celulares bacterianas, interfiriendo con el crecimiento, la viabilidad celular y bloqueando los sitios de interacción con células del hospedero, previniendo la infección (Procópio et al. 2017).

La actividad biológica de las lectinas es una consecuencia directa de la capacidad de reconocimiento y unión a carbohidratos específicos en la superficie de la membrana. Las lectinas se enlazan a los monosacáridos de la membrana celular, actúan enviando señales y entregando mensajes a las células, causando cambios bioquímicos en la célula que se

expresan como aglutinación, mitosis-multiplicación, división celular o desarrollar actividad antigénica. (Vázquez et al., 2012).

OBJETIVOS

General:

- Determinar la presencia de lectina en extractos obtenidos a partir de las partes aéreas de *Verbesina crocata*.

Específicos:

- Realizar una búsqueda bibliográfica acerca de las metodologías donde identifiquen la presencia de lectinas a partir de plantas.
- Proponer una metodología para poder extraer lectinas.
- Cuantificar las proteínas totales de los extractos obtenidos.
- Revisión bibliográfica sobre lectinas extraídas de *Verbesina crocata* con actividad antimicrobiana.

METODOLOGÍA

Obtención y preparación del material vegetal

Se obtuvo un kilo de tisana herbal de Capitaneja identificada por su nombre científico “*Verbesina crocata*” vendida por la Herbolaria Tenango.

El material vegetal se encontraba en buen estado, seco y triturado, se podía identificar en la mezcla hojas, tallos y flores, las cuales fueron separadas y licuadas con ayuda de una licuadora para facilitar su manipulación posteriormente.

Extracción de lectinas

Preparación de soluciones requeridas

Buffer de Fosfatos pH 7.4

Se pesaron 2 gramos de hidróxido de sodio y se traspasó a un matraz aforado de 200 mL, posteriormente se aforó con agua destilada cbp.

Posteriormente se pesaron 6.8 gramos de fosfato monobásico de potasio (K_2HPO_4) y se agregaron a un matraz volumétrico de 1 L y se agregaron 195.5 mL de la solución de hidróxido de sodio, se aforo cbp.

Se ajustó la solución preparada a un pH de 7.4 ± 0.1 como la solución de hidróxido de sodio 0.2 N o ácido fosfórico.

Solución de ácido tricloroacético al 50%

Se pesaron 50 gramos de ácido tricloroacético ($C_2HCl_3O_2$), se transfirió a un matraz volumétrico de 100 mL y se aforo cbp.

Técnica de Entlicher

Se pesaron 12.5 gramos de muestra vegetal (hojas, flores y tallos) y se agregaron 25 mL de éter de petróleo y se adiciono agitación mecánica por 10 minutos, se dejó reposar por 30 minutos, se filtró al vacío y se realizó tres lavados con agua destilada.

Se realizó una maceración con 50 mL de buffer de fosfatos a 7.4 por 24 horas, se filtró al vacío y se recuperó el líquido filtrado.

Se añadió al filtrado 5 mL por cada 100 mL de la solución de ácido tricloroacético y se dejó reposar por 24 horas hasta observar la formación de un precipitado.

Una vez formado el precipitado se llevó a centrifugar a una velocidad de 8000 rpm a $10^\circ C$, se eliminó el sobrenadante, se realizaron tres lavados con agua destilado y se resuspendió en el buffer de fosfatos.

Maceración del material vegetal

Se llevaron a cabo con tres solventes los cuales fueron: Acetona, una mezcla de Etanol-Agua (50:50) y el Buffer de Fosfatos a un pH de 7.4, la proporción que se utilizó para cada una de las maceraciones fue de 1:10.

Se pesaron 5 gramos de material vegetal para posteriormente transferirlo a un matraz Erlenmeyer de 125 mL y adicionar 50 mL del solvente utilizado.

El procedimiento se realizó de la misma forma para cada uno de los solventes tomando en cuenta 3 maceraciones por cada parte de la planta y se dejó macerar por 72 horas.

Cuantificación de proteínas totales

La cuantificación de proteínas nos permite identificar si los extractos obtenidos por las técnicas propuestas, contienen proteínas y en qué concentración. Se utilizó la metodología descrita en el método de Lowry.

Método de Lowry

Reactivo A

(Solución de Carbonato de Sodio (Na_2CO_3) al 2% en NaOH al 0.1 M)

Se prepararon 500 mL de la solución para la cual primero se pesaron 10 gramos de Na_2CO_3 y 2 gramos de NaOH para posteriormente transferirlos a un matraz volumétrico de 500 mL, posteriormente se aforó con agua destilada cbp.

Reactivo B1

(Solución de Sulfato cúprico $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ al 1%)

Se prepararon 25 mL de solución B1, se pesó 2.5 gramos de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y se adiciono en un matraz volumétrico de 25 mL y se aforó con agua destilada cbp.

Reactivo B2

(Solución de Tartrato sodio y potasio ($\text{K}(\text{OOC}(\text{CHOH})_2\text{COONa} \cdot 4\text{H}_2\text{O})$ al 2%)

Se prepararon 25 mL de solución B1, se pesó 5 gramos de Tartrato y se adiciono en un matraz volumétrico de 25 mL y se aforó con agua destilada cbp.

Reactivo C (Reactivo de Lowry)

Se preparó con la solución A, B1 y B2 en una proporción de **50 : 0.5 : 0.5**

Solución patrón de albúmina bovina a 1 mg/mL

Se pesó 13.6 mg de albúmina bovina y se le adicionaron 13.6 mL de agua destilada.

Reactivo de Folin-Ciocalteu al 33%

Se midieron 16.5 mL del reactivo de fenol de Folin & Ciocalteu se transfirió a un matraz volumétrico de 50 mL y se aforó con agua destilada cbp.

Curva de calibración con albúmina bovina (1 mg/mL)

La curva de calibración se realizó de acuerdo a la siguiente Tabla 2.

Tabla 2. Procedimiento para realizar la curva de calibración de albúmina bovina.

Volumen de muestra	Volumen de agua	Volumen de Reactivo C	Reposo	Volumen de Reactivo de Folin	Baño maria	Enfriar con hielo
0 mL	1.0 mL	5 mL	15 minutos	0.5 mL	15 minutos	5 minutos
0.1 mL	0.9 mL	5 mL	15 minutos	0.5 mL	15 minutos	5 minutos
0.3 mL	0.7 mL	5 mL	15 minutos	0.5 mL	15 minutos	5 minutos
0.5 mL	0.5 mL	5 mL	15 minutos	0.5 mL	15 minutos	5 minutos
0.9 mL	0.1 mL	5 mL	15 minutos	0.5 mL	15 minutos	5 minutos

Una vez que tengamos las muestras listas se leen en el espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 650 nm.

Tratamiento de muestra

Se midieron 0.5 mL de muestra y adicionaron en un tubo de ensayo posteriormente se le añadió 0.5 mL de agua destilada y 5 mL del reactivo C, se agitó y dejó reposar por 15 minutos.

Una vez transcurrido el tiempo se adicionaron 0.5 mL del reactivo de Folin y se llevó a un baño maría de 55 °C por 15 minutos, posterior a esto se enfrió con hielo por 5 minutos.

Por último se leyeron en el espectro a una longitud de onda de 650 nm.

Cálculos para obtener la concentración de proteínas

Una vez que se obtuvieron los resultados de absorbancia para la curva de calibración de albúmina se aplicó una regresión lineal, donde se representan la función exponencial de los datos de absorbancia obtenidos frente a la concentración de proteínas.

Fórmula 1. Ecuación de la recta

$$y = mx + b$$

Para poder realizar los cálculos es importante despejar la x de la ecuación de la recta (*Fórmula 1*) y obtuvimos la siguiente ecuación:

Fórmula 2. Despeje de x en la ecuación de la recta

$$x = (y - b)/m$$

La cual se usó para poder obtener la concentración de las proteínas totales de cada uno de los extractos. Es importante recalcar que para los extractos obtenidos a través de las maceraciones se multipliquen por el factor de dilución utilizado para obtener la concentración total.

Prueba cualitativa para identificar lectinas (Hemaglutinación)

Se realizó con dos grupos sanguíneos O positivo y A positivo.

Se tomó una gota de sangre y se colocó en un portaobjetos y se adiciono una gota de cada uno de los extractos obtenidos se mezcló con un palito de madera y se observó si el extracto era capaz de aglutinar la sangre.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención y preparación de material vegetal

La planta se obtuvo a través de un mercado digital cual ofrecía con “té de Capitaneja”, expedida por Herbolaria Tenango y originaria del estado de Hidalgo, el contenido describe que es 100% de hojas, tallos y flores de Capitaneja y posterior el nombre científico de la planta *Verbesina crocata* y de más información que se encuentra en la Figura 2.

Figura 2. Datos de etiqueta de té de Capitaneja.



Posterior a esto el material vegetal se separó de manera manual en hojas, flores y tallos con el objetivo de poder facilitar su uso.

Caracterización de los extractos obtenidos


Se obtuvieron un total de 12 extractos diferentes que contenían diversas características organolépticas que se describen en la Tabla 3.

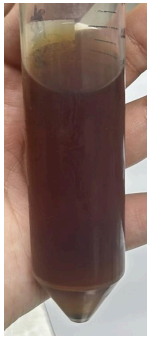

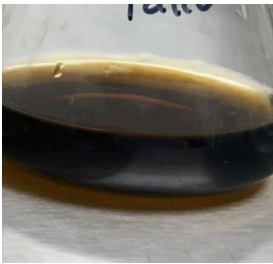
Al observar la tabla podemos identificar algunos extractos obtenidos que se distinguen por tener colores oscuros y opacos esto puede dar un indicio a que estos contengan una gran

cantidad de sustancias bioactivas en este caso son los extractos EP HOJAS, MB HOJAS, MB FLORES y MB TALLOS, que es como identifique las muestras de estudio.

Tabla 3. Características organolépticas de los extractos obtenidos.

Extracto	Color	Olor
	EP HOJAS	Amarillo ambar oscuro
	EP FLORES	Amarillo ambar claro
	EP TALLOS	Sin olor
	MA HOJAS	Olor predominante al solvente

	<p>MA FLORES</p>	<p>Verde lima</p>	<p>Olor predominante al solvente</p>
	<p>MA TALLOS</p>	<p>Verde lima</p>	<p>Olor predominante al solvente</p>
	<p>ME HOJAS</p>	<p>Amarillo naranja</p>	<p>Olor a té</p>
	<p>ME FLORES</p>	<p>Amarillo intenso</p>	<p>Ligero olor a té</p>
	<p>ME TALLOS</p>	<p>Amarillo intenso</p>	<p>Olor a solvente</p>

	MB HOJAS	Café oscuro	Ligeramente dulce
	MB FLORES	Café oscuro	Ligeramente dulce
	MB TALLOS	Café oscuro	Ligeramente dulce

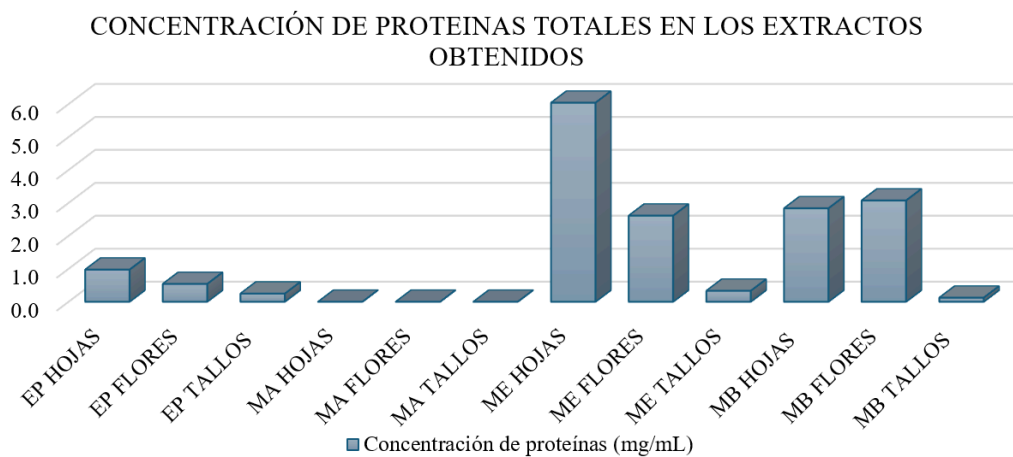
Cuantificación de proteínas totales (Método Lowry)

Se obtuvieron los siguientes resultados para la cuantificación de proteínas totales existentes en los extractos obtenidos (Tabla 4). De acuerdo a la Gráfica 1 Se puede identificar que los extractos con mayor concentración de proteínas son ME HOJAS, MB FLORES y MB HOJAS mientras que los extractos con acetona presentaban concentraciones negativas lo que nos dice que no hay presencia de proteínas en estos extractos.

Tabla 4. Resultados de absorbancia y concentración de proteínas totales de los extractos obtenidos.

Muestra	Absorbancia	Concentración (mg/mL)
EP HOJAS	0.794	0.975
EP FLORES	0.503	0.541
EP TALLOS	0.306	0.248
MA HOJAS	0.068	0
MA FLORES	0.022	0
MA TALLOS	0.020	0
ME HOJAS	0.545	6.040
ME FLORES	0.315	2.613
ME TALLOS	0.162	0.332
MB HOJAS	0.330	2.836
MB FLORES	0.346	3.075
MB TALLOS	0.148	0.124

Gráfica 1. Comparación de las concentraciones de proteínas obtenidas de cada uno de los extractos.



Con el gráfico 1 podemos identificar que a través de la maceración con la mezcla de etanol y agua destilada en una proporción de 50:50 se obtuvo una concentración de proteínas mayor aunque se ha reportado que el etanol puede provocar la desnaturalización de las proteínas, Chien y Joff en 1990 reportaron que el etanol puede extraer compuestos como hidratos de carbono, proteínas y entre otras más. La mezcla utilizada propicia una extracción con mayor efectividad en comparación con otros solventes. Mientras que la maceración realizada con el buffer de fosfatos a un pH de 7.4, ofrece un medio sin alteraciones de pH que puedan desnaturalizar a las proteínas.

Identificación de lectinas

Los resultados de la prueba se encuentran en la Tabla 5, como podemos ver los extractos obtenidos a través de la técnica de Entlicher y de los tres tipos de material vegetal consiguieron aglutinar con los dos grupos sanguíneos A positivo y O positivo mientras que los extractos macerados con el buffer de fosfatos también presentaron aglutinación pero solo con el grupo A positivo.

Los demás extractos obtenidos no presentaron aglutinación con ninguno de los grupos sanguíneos utilizados. Con esto podemos decir que los extractos EP HOJAS, Y FLORES, EP TALLOS (Figura 3 y Figura 4) existe la presencia de lectinas con afinidad a los siguientes monosacáridos acetilgalactosamina (presente en las pared eritrocitos del grupo sanguíneo A) y fucosa (presente en las pared eritrocitos del grupo sanguíneo O) , mientras que los extractos MB HOJAS, MB FLORES y MB TALLOS solo presentan afinidad a la fucosa.

Tabla 5. Resultados de la prueba de hemoaglutinación de los extractos obtenidos para identificar la presencia de lectinas

Muestra	Grupo sanguíneo A	Grupo sanguíneo O
EP HOJAS	+	+
EP FLORES	+	+
EP TALLOS	+	+
MA HOJAS	-	-

MA FLORES	-	-
MA TALLOS	-	-
ME HOJAS	-	-
ME FLORES	-	-
ME TALLOS	-	-
MB HOJAS	+	-
MB FLORES	+	-
MB TALLOS	+	-
+	Con presencia de aglutinación	
-	Sin presencia de aglutinación	

Figura 3. Prueba de hemoaglutinación para extractos obtenidos por la técnica de Entlicher con sangre A+

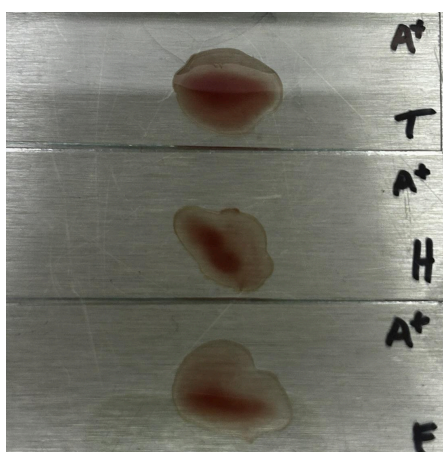
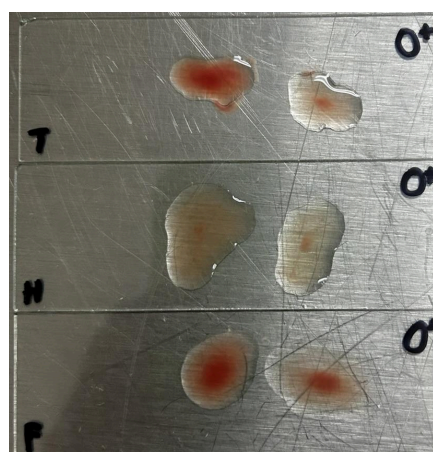


Figura 4. Prueba de hemoaglutinación para extractos obtenidos por la técnica de Entlicher con sangre O+



Propiedades antimicrobianas de las lectinas extraídas de capitaneja

Existen pocos reportes científicos sobre su uso biológico; por ejemplo García Peralta en 2016 los extractos acuosos no presentaron actividad antimicrobiana, planteando el uso de agua como solvente de extracción y tomando en cuenta que es capaz de poder extraer algunas sustancias bioactivas.

Por otro lado Reyes Virrueta en 2014 obtuvieron dos extractos, uno de ellos el extracto crudo el cual se obtuvo a través de una maceración con buffer de fosfatos salino presentó actividad antimicrobiana para tres cepas de referencia microbiológica: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 255 $\mu\text{l/mL}$, *Escherichia coli* 25922 con una CMI de 127.5 $\mu\text{l/mL}$ y para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 con una CMI de 127.5 $\mu\text{l/mL}$, se probó la capacidad inhibitoria con 7 cepas de referencia pero no mostraron actividad antimicrobiana.

El extracto sin fragmentos obtenido a través de una despigmentación con acetona y alcohol que posteriormente se separaron por destilación simple y evaporación, presentando capacidad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con una CIM de 5.1 $\mu\text{l/mL}$, *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) con una CMI de 82.5 $\mu\text{l/mL}$, *Bacillus cereus* ATCC 14579 y *Shigella sonnei* con una CMI de 165 $\mu\text{l/mL}$.

Además de los pigmentos obtenidos a partir de la despigmentación con acetona presentaron actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y los pigmentos alcohólicos presentaron actividad contra *Staphylococcus aureus* ATCC 27543 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

CONCLUSIONES

Se identificó la presencia de lectinas en seis de los doce extractos obtenidos de las partes aéreas de la *Verbesina crocata* (Hojas, flores y tallos).

La hemaglutinación se utilizó como prueba cualitativa para identificar la presencia de lectinas debido a que tienen la capacidad de unirse a los carbohidratos presentes de fucosa y acetyl galactosamina en la pared celular de los eritrocitos de los grupos sanguíneos A y O .

Las cuatro metodologías propuestas lograron realizar la extracción de proteínas, pero solo la técnica de Entlicher y la maceración con el buffer de fosfatos lograron obtener lectinas con la capacidad de aglutinar los grupos sanguíneos utilizados.

De acuerdo con los resultados de la cuantificación de proteínas totales los extractos obtenidos a través de la maceración con de la mezcla de etanol y agua de las hojas tuvieron una concentración total de proteínas mayor a la de los demás métodos de extracción, además podemos observar que las concentraciones más altas de proteínas se encuentran en aquellos extractos obtenidos a partir de las hojas de la capitaneja.

Con la búsqueda bibliográfica encontrada podemos intuir que las lectinas extraídas comparten la especificidad por la fucosa y acetilgalactosamina propiedad que puede y puede atribuirse que tengan la misma actividad antimicrobiana contra aquellos microorganismos que cuenten con ellos.

Este proyecto puede escalarse para poder identificar la especificidad ante otro tipos de carbohidratos y realizar una purificación de estas proteínas y darle un uso clínico como antimicrobiano, que no comprometa las propiedades de estas mismas.

BIBLIOGRAFÍA

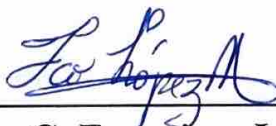
- Bah, C. S. F., Fang, E. F., & Ng, T. B. (2012). Medicinal Applications of Plant Lectins. Antitumor Potential and other Emerging Medicinal Properties of Natural Compounds, 55–74. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6214-5_5
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 2016. CONABIO. Enciclovida. Nombre común Árnica capitaneja Nombre de la especie *Verbesina crocata* Consultado: lunes, 12 de octubre de 2020 <https://enciclovida.mx/especies/180322-verbesina-crocata>
- Conabio. (n.d.). Árnica capitaneja (*Verbesina crocata*). EncicloVida. <https://enciclovida.mx/especies/180322-verbesina-crocata>
- CONABIO. 2020. Medicinal <https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/medicinal>. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Cd. de México. México.
- CRUZ, P. H., CAMPOS, E. P., ORTIZ, L. M. M. B., & MARTÍNEZ, G. LAS LECTINAS VEGETALES COMO MODELO DE ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES PROTEÍNA-CARBOHIDRATO.
- GARCIA, R. D., & GONZÁLEZ, M. E. M. (2015). Medicina tradicional y las plantas medicinales en el contexto actual. Desde El Herbario CICY, 7, 165–168, 2015.
- García-Bores, A. M., Álvarez-Santos, N., López-Villafranco, M. E., Jácquez-Ríos, M. P., Aguilar-Rodríguez, S., Grego-Valencia, D., Espinosa-González, A. M., Estrella-Parra, E. A., Hernández-Delgado, C. T., Serrano-Parrales, R., Del Rosario González-Valle, M., & Del Carmen Benítez-Flores, J. (2020). *Verbesina crocata*: A pharmacognostic study for the treatment of wound healing. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(11), 3113–3124. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.08.038>
- Konozy, E. H. E., Osman, M. E. F. M., Dirar, A. I., & Gharthey-Kwansah, G. (2022). Plant lectins: A new antimicrobial frontier. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 155, 113735.
- Mancera-Castro, P. (2021). Purificación de las lectinas de *Vigna unguiculata* y su actividad antioxidante.
- Reyes Virrueta, A. L. (2014). Caracterización bioquímica y antibacteriana de lectinas de capitaneja (*Verbesina crocata*).
- Salazar-Gómez, A., Pablo-Pérez, S. S., Estévez-Carmona, M. M., & Meléndez-Camargo, M. E. (2018). Diuretic activity of aqueous extract and smoothie preparation of *Verbesina crocata* in rat. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 13(3), 236–240. <https://doi.uam.elogim.com/10.3329/bjp.v13i3.27584>

- Secretaria De Agricultura Y Desarrollo Rural, S. (2020). Plantas medicinales, una opción tradicional y natural para conserv. . . . gov.mx. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/plantas-medicinales-una-opcion-tradicional-y-natural-para-conservar-la-salud?idiom=es>
- Van Driessche, E., De Cupere, F., Cruz, E., Machado, J., & Beeckmans, S. (2000). Lectinas de origen vegetal: definiciones, métodos de purificación y aplicaciones. Universidad Central de Las Villas, 19(2), 147-54.
- Vázquez-Luna, A., Rivadeneyra-Domínguez, E., & Díaz-Sobad, R. (2012). Lectinas en frutas y plantas comestibles: nuevas posibilidades de interacción entre la ciencia de los alimentos y la biomedicina. *CienciaUAT*, 6(3), 60-66.
- Velasco-Ramírez, A. P., Velasco-Ramírez, S. F., & Velasco-Ramírez, A. (2019). Uso en medicina tradicional de *Verbesina sphaerocephala* A. Gray (Asteraceae) en la comunidad de San Martín de las Flores, Jalisco, México. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 18(2), 144-154.

**INFORME DE SERVICIO SOCIAL DE LA LICENCIATURA EN
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA**

Determinación de lectinas con propiedades antimicrobianas de
Capitaneja (*Verbesina crocata*).

Vo. Bo.



M. en C. Francisco López Naranjo.