



IX Congreso del Departamento de Sistemas Biológicos



13 y 14 octubre 2022

Auditorio Javier Mina

UAM Xochimilco

DIRECTORIO

Dr. Francisco Javier Soria López
Rector de Unidad

Dra. María Angélica Buendía Espinosa
Secretaria de Unidad

Mtra. María Elena Contreras Garfias
Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Dr. Luis Amado Ayala Pérez
Secretario de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Dr. Juan Esteban Barranco Florido
Jefe del Departamento de Sistemas Biológicos

Dra. T. Verónica Barón Flores
Jefa del Área de Farmacocinética y Farmacodinamia

Dr. Juan Francisco Palacios Espinosa
Jefe del Área de Obtención y Producción de Compuestos Orgánicos

Mtro. Alejandro Palma Ramos
Jefe del Área de Productos Biológicos

Dr. Jorge Esteban Miranda Calderón
Jefe del Área de Tecnología Farmacéutica

COMITÉ ORGANIZADOR

Dr. Juan Esteban Barranco Florido
Jefe del Departamento de Sistemas Biológicos

Dra. T. Verónica Barón Flores
Jefa del Área de Farmacocinética y Farmacodinamia

Dr. Juan Francisco Palacios Espinosa
Jefe del Área de Obtención y Producción de Compuestos Orgánicos

Mtro. Alejandro Palma Ramos
Jefe del Área de Productos Biológicos

Dr. Jorge Esteban Miranda Calderón
Jefe del Área de Tecnología Farmacéutica

COMITÉ CIENTÍFICO

Dra. Georgina Alarcón Angeles

Dra. Verónica Barón Flores

Dr. Jorge Esteban Miranda Calderón

Dr. Carlos Alberto Méndez Cuesta

Dr. Alberto Ortega Vázquez

M. en C. Alejandro Palma Ramos

Dr. Fernando Rodríguez Ramos

Dr. Juan Francisco Palacios Espinosa

Dra. Karina Sánchez Herrera

COMITÉ EVALUADOR DE CARTELES

Dra. Verónica Barón Flores

M. en C. Marcela Hurtado Y De La Peña

Dr. Jorge Esteban Miranda Calderón

Dr. Carlos Alberto Méndez Cuesta

Dr. Alberto Ortega Vázquez

M. en C. Alejandro Palma Ramos

Dr. Fernando Rodríguez Ramos

Dr. Juan Francisco Palacios Espinosa

Dra. Karina Sánchez Herrera

OBJETIVO

Promover la difusión de conocimientos y resultados de los proyectos de investigación del Departamento de Sistemas Biológicos que se encuentran registrados en la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, así como la integración de las y los estudiantes de licenciatura de QFB y de posgrado en las investigación que realiza el departamento, además de establecer un espacio de reflexión sobre la relevancia de las líneas de investigación de DSB y el estado en que se encuentran cada una de las áreas de investigación

Programa

Jueves 13 de octubre de 2022

Inauguración 9:00 a 9:30 Auditorio Francisco Javier Mina

Área Farmacocinética y Farmacodinamia (FF)

Mesa: Moderadora Dra. T. Verónica Barón Flores 9:30 – 9:45

El tratamiento con 17β -estradiol y progesterona aumentan la actividad de GAD65 en regiones cerebrales relacionadas con el sueño de ratas ovariectomizadas.

Dra. Marisa Cabeza Salinas 9:45 – 10:00

Diseño de métodos y sistemas para la evaluación fisicoquímica y biológica de moléculas de interés farmacéutico.

M. en C. Raúl Medina López, Dr. Martín Gómez Hernández, Dra. Georgina Alarcón Ángeles, M. en C. Marcela Hurtado y de la Peña 10:00 – 10:15

Estudios de disolución como herramienta de predicción del desempeño *in vivo*

Jesús Jovani Hernández Osorio, M. en C. Raúl Medina López
10:15 -10:30

La toxicidad sistémica aguda del Talio en ratas produce estrés oxidativo: atenuación por metalotioneína

Dr. Luis Camilo Ríos Castañeda, Dra. T. Verónica Barón Flores
10:30 -10:45

Participación de la vía NFkB-p65 en el efecto analgésico (anti-alodínico y anti-hiperalgésico) inducido por Pramipexol en rata

Dra. Beatriz Godínez Chaparro 10:45 – 11:00

Perspectivas del Área de FF Dra. T. Verónica Barón Flores

Receso 11:00 – 11:15

Área Obtención y Producción de Compuestos Orgánicos (OPCO)

Mesa: Moderador Dr. Juan Francisco Palacios Espinosa 11:15-11:30

La red de innovación de José Erdos Blau en el sector farmacéutico mexicano (1940-1970)

Dra. Patricia Elena Aceves Pastrana 11:30 – 11:45

Actividad antiinflamatoria de dos plantas usadas en la medicina tradicional.
Dr. Ernesto Sánchez Mendoza 11:45 – 12:00

Síntesis biocatalítica de compuestos ópticamente activos Dra. Rubria Marlen Martínez
Casares
12:00 – 12:15

Síntesis y actividad antiprotozoaria de derivados de indazol Dr. Jaime Pérez Villanueva
12:15 – 12:30

Síntesis de porfirinas con actividad farmacológica Dr. Carlos Alberto Méndez
Cuesta
12:30 – 12:45

Diseño y semisíntesis de derivados del ácido glicirretínico como inhibidores de la PTP1B
y/o α -glucosidasa para el tratamiento de la diabetes tipo 2 y obesidad
Dr. Juan Francisco Cortés Benítez 12:45 – 13:00

Resolución enzimática de fenilalanina, triptófano y leucina con KAPs
Dr. Héctor Luna Contla 13:00 – 13:15

Perspectivas del Área de OPCO Dr. Juan Francisco Palacios Espinosa

Sesión de Posters

16:00 horas a 18:00 horas

Trabajos modulares de los alumnos de licenciatura QFB y de investigación de alumnos de posgrado

Viernes 14 de octubre de 2022 Área Productos Biológicos (PB)

Moderador: M. en C. Alejandro Palma Ramos (preguntas) 9:00 – 9:15

Presencia de sistemas biosintéticos PKS y NRPS en actinobacterias patógenas
Janette González Nava, Dr. Horacio Sandoval Trujillo,
Q.F.B. Nora Lidia Sánchez Saucedo 9:15 – 9:30

Posible reducción de la edad epigenética asociada al tratamiento con clozapina a largo
plazo en pacientes con trastornos psicóticos
Dr. Alberto Ortega Vázquez 9:30 – 9:45

Presencia de células CD161 productoras de IL-17A en actinomicetomas por *Nocardia
brasiliensis* o por *Actinomadura madurae*
M. en C. Alejandro Palma Ramos 9:45 – 10:00

Identificación estructural de Beauvericina producida por *Fusarium oxysporum* AB2 bajo condiciones de cultivo sólido

Dr. Juan Esteban Barranco Florido 10:00 – 10:15

Obtención y caracterización de la actividad antiinflamatoria de *Jeffea gnaphaloides*

Dra. Ana Laura Esquivel Campos, Dra. Julia Pérez Ramos,

M. en C. Felipe Mendoza Pérez 10:15 – 10:30

Análisis de componentes de la barrera intestinal en ratones machos sometidos a estrés

Dra. Elisa Drago Serrano, Dra. Fabiola Guzmán Mejía 10:30-10:45

Microbiomas, fuente de microorganismos interesantes para la salud humana, animal, vegetal y de suelos

Dr. Alejandro Azaola Espinosa, Dr. Lino Mayorga Reyes 10:45 – 11:00

Perspectivas del Área de PB M. en C. Alejandro Palma Ramos

Índice

Resúmenes	Página
Ponencias	
Área Farmacocinética y Farmacodinamia	1
Área Obtención y Producción de Compuestos Orgánicos	25
Área Productos Biológicos	54
Área Tecnología Farmacéutica	72
Carteles por Ejes temáticos	
Aseguramiento de la Calidad (AC)	98
Biofarmacia (BFA)	104
Biotecnología, Biología Molecular y Microbiología (BTM)	109
Biotransformaciones (BTR)	159
Farmacología y Toxicología (FTX)	195
Inmunología (INM)	238
Productos Naturales (PN)	244
Química Analítica (QA)	258
Química Orgánica y Farmacéutica (QOF)	265
Tecnología Farmacéutica (TF)	317

Área

Farmacocinética y Farmacodinamia

Ponencias

EL TRATAMIENTO CON 17 β -ESTRADIOL Y PROGESTERONA AUMENTA LA ACTIVIDAD DE GAD₆₅ EN REGIONES CEREBRALES RELACIONADAS CON EL SUEÑO DE RATAS OVARIECTOMIZADAS

Cabeza M^{1*}, Carrasco-Núñez N¹, Romano M².

¹Departamento de Sistemas Biológicos. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Calzada del Hueso 110, Colonia Villa Quietud, Coyoacán, 04960 Ciudad de México, México.

² CINVESTAV. Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, San Pedro Zacatenco, Gustavo A. Madero, 07360 Ciudad de México, México.

marisa@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Actividad de glutamato descarboxilasa, regiones cerebrales GABAérgicas, alteración del sueño y hormonas sexuales femeninas.

Introducción

Los cambios hormonales alrededor de la menopausia se relacionan con la aparición de trastornos del sueño. Ningún estudio ha evaluado la asociación entre las hormonas sexuales y el sueño. Tampoco se conoce la asociación de estas hormonas con la producción del ácido γ -aminobutírico (GABA) en diferentes neuronas gabaérgicas relacionadas con el proceso de sueño. [1]

Objetivo

El objetivo de este estudio fue el de demostrar que el tratamiento con 17 β -estradiol y/o progesterona (EPT) a aumenta la síntesis de ácido γ -aminobutírico (GABA) en regiones cerebrales asociadas al sueño en ratas ovariectomizadas.

Método

Se determinó la conversión *in vitro* de glutamato en GABA en diferentes regiones GABAérgicas del cerebro, de ratas castradas (OVX). Las ratas se inyectaron con distintas dosis de 17 β -estradiol y/o progesterona (EPT) diariamente por cinco semanas consecutivas, manteniendo un grupo control, con la finalidad de conocer

el impacto de estos tratamientos sobre la actividad de la glutamato descarboxilasa (GAD), presente en el cerebro de los animales. Esta enzima cataliza la conversión de glutamato en GABA; se han descrito dos isoenzimas de la GAD, GAD₆₅ y GAD₆₇. Mientras que GAD₆₅ es una enzima de membrana, el GAD₆₇ está presente en el sobrenadante obtenido después de centrifugar el homogenado cerebral a 14.000 g. [2]

Las ratas se sacrificaron y después, se separó el cerebro y se diseccionaron algunas de las regiones del mismo: *locus coeruleus*, *sustancia negra* y el sistema reticular activador ascendente, que han sido previamente evaluadas por su importancia en los procesos de sueño. [3-5] Las estructuras separadas se homogeneizaron y centrifugaron, con la finalidad de obtener las fuentes de GAD₆₅ y de GAD₆₇. La fracción de la membrana y del sobrenadante, se incubaron por separado en presencia de 17 β -estradiol y/o progesterona, con glutamato marcado con tritio y con fosfato de piridoxal, para evaluar la descarboxilación del glutamato mediante la formación de una base de Schiff, en dos períodos de tiempo (una y tres horas). Los productos formados se separaron por TLC y se identificó la base de Schiff formada, por su fluorescencia, a una λ de 302 nm. Se cuantificó esta reacción, valorando la radiactividad presente en la zona de fluorescencia. [5-8]

Resultados

Los resultados indicaron que el tratamiento con 17 β -E₂, aumentó la actividad de GAD₆₅ y GAD₆₇ en todas las regiones cerebrales estudiadas en comparación con el control OVX en los dos períodos estudiados. Sin embargo, la P₄, incrementó la actividad de ambas enzimas (GAD₆₅ y GAD₆₇), pero solamente en el sistema de activación reticular ascendente y *locus coeruleus* durante los dos tiempos de incubación. Mientras que la combinación de ambos esteroides aumentó significativamente la síntesis de GABA después de 3 horas para GAD₆₅ y desde la primera hora para GAD₆₇. Curiosamente, la presencia de EPT + RU-486 anuló la actividad de GAD₆₅. El RU-486 es un antagonista de receptor de progesterona (PR).

Por tanto, la activación de GAD₆₅ es dependiente de progesterona. Por el contrario, GAD₆₇ no depende de este esteroide para su activación.

Los datos de este experimento podrían explicarse con base a las evidencias previamente reportadas por, Giangrande, et al. [9] quienes demostraron que los dos tipos de PR (PR-A y PR-B) tienen diferente afinidad por correpressores nucleares específicos. Mientras que PR-A muestra una unión alta para correpressores como SMRT, PR-B muestra una unión más alta para coactivadores como SRC-1. Informaron también que el antagonista de PR-A RU-486 es capaz de aumentar la expresión del PR-B.

Conclusiones

El EPT aumentó la actividad de GAD₆₅; mientras que el antagonista del PR RU-486, bloqueó esta actividad, lo que sugiere que el RU-486 se unió al PR-A. Sin embargo, la actividad de GAD₆₇ se incrementó en presencia de RU-486, lo que podría explicarse como que este esteroide, aumentó la expresión de PR-B y como consecuencia se activaron coactivadores que aumentaron la codificación de esta enzima.

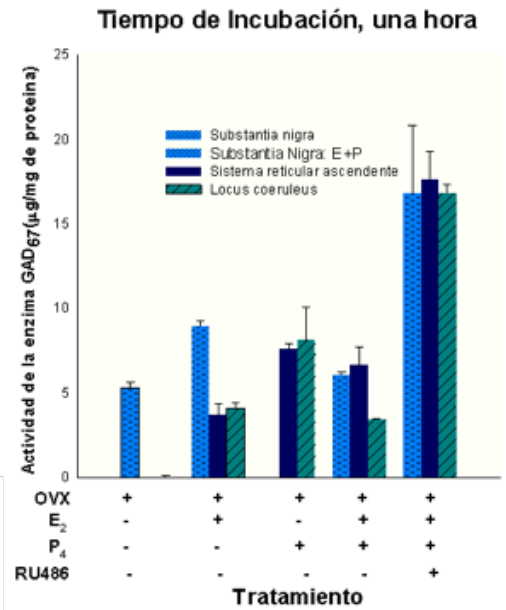
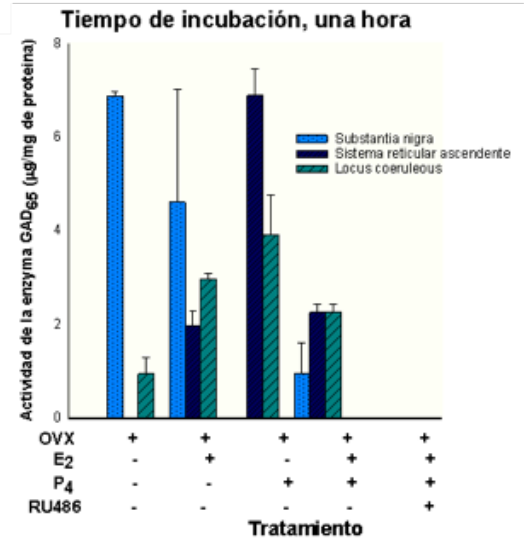
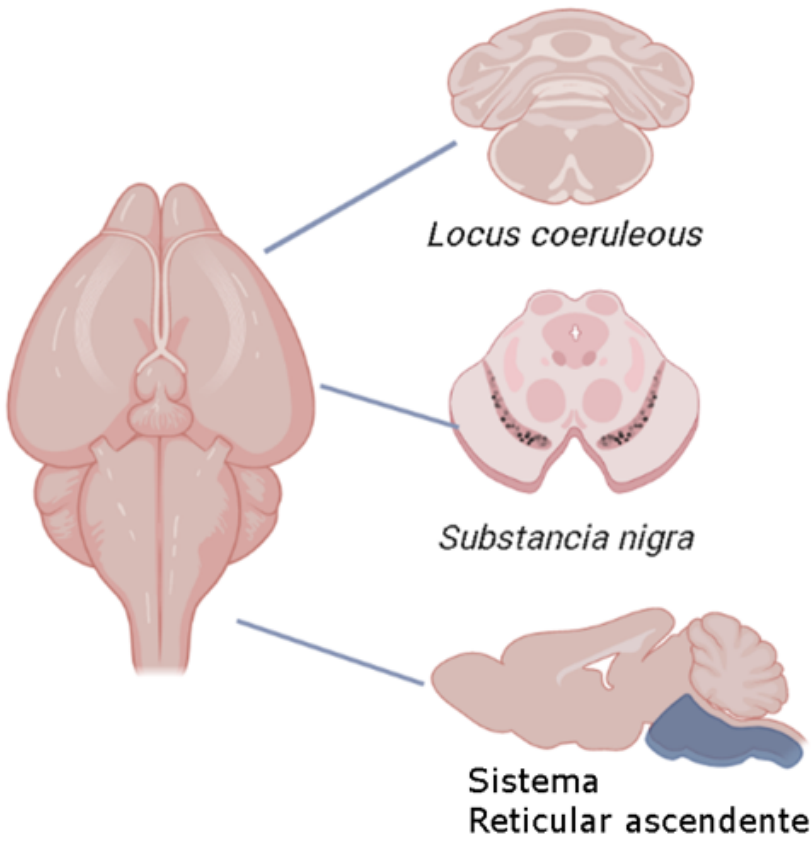
Referencias

1. Zambotti M, Colrain IM, Baker FC. Interaction between reproductive hormones and physiological sleep in women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015, 100 (4):1426-33. Doi: 10.1210/jc.2014-3892.
2. Bu DF, Erlander MG, Hitz BC, Tillakaratne NJ, Kaufman DL, Wagner-McPherson CB, et al. Two human glutamate decarboxylases, 65-kDa GAD and 67-kDa GAD, are each encoded by a single gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992; 89 (6):2115-9. DOI: 10.1073/pnas.89.6.2115
3. Simerly RB, Chang C, Muramatsu M, Swanson LW. Distribution of androgen and estrogen receptor mRNA-containing cells in the rat brain: an *in situ*

- hybridization study. *J Comp Neurol.* 1990;294(1):76-95. DOI: 10.1002/cne.902940107
4. Aston-Jones G, Shipley MT, Chouvet G, Ennis M, van Bockstaele E, Pieribone V, et al. Afferent regulation of locus coeruleus neurons: anatomy, physiology, and pharmacology. *Prog Brain Res.* 1991; 88: 47-75. DOI: 10.1016/s0079-6123(08)63799-1
 5. Kaur S, Panchal M, Faisal M, Madan V, Nangia P, Mallick BN. Long-term blocking of GABA-A receptor in locus coeruleus by bilateral microinfusion of picrotoxin reduced rapid eye movement sleep and increased brain Na-K ATPase activity in freely moving normally behaving rats. *Behav Brain Res.* 2004; 151 (1-2):185-90. DOI: 10.1016/j.bbr.2003.08.011
 6. Wiesinger H, Hinz HJ. Kinetic and thermodynamic parameters for Schiff base formation of vitamin B6 derivatives with amino acids. *Arch Biochem Biophys.* 1984; 235 (1):34-40. DOI: 10.1016/0003-9861(84)90252-2
 7. Qiu T, Li H, Cao Y. Pre-staining thin layer chromatography method for amino acid detection. *African Journal of Biotechnology.* 2010, 9 (50) 8679-8681.
 8. Vázquez MA, Muñoz F, Donoso J, García Blanco F. Spectroscopic study of the Schiff bases of dodecylamine with pyridoxal 5'-phosphate and 5'-deoxypyridoxal. A model for the Schiff bases of pyridoxal 5'-phosphate in biological systems. *Biochem J.* 1991; 279 (Pt 3)(Pt 3):759-67. DOI: 10.1042/bj2790759
 9. Adrover M, Vilanova B, Muñoz F, Donoso J. Unexpected isomeric equilibrium in pyridoxamine Schiff bases. *Bioorg Chem.* 2009; 37(1):26-32. DOI: 10.1016/j.bioorg.2008.11.002
 10. Giangrande PH, Kimbrel EA, Edwards DP, McDonnell DP. The opposing transcriptional activities of the two isoforms of the human progesterone receptor are due to differential cofactor binding. *Molecular and Cellular Biology.* 2000;20(9):3102-15.

Resumen gráfico

In vitro
experimentos



“DISEÑO DE MÉTODOS Y SISTEMAS PARA LA EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y BIOLÓGICA DE MOLÉCULAS DE INTERÉS FARMACÉUTICO”

Marcela Hurtado y de la Peña, Georgina Alarcón Ángeles, José Raúl Medina López
Departamento de Sistemas Biológicos, Área de Farmacocinética/Farmacodinamia*

**Marcela Hurtado y de la Peña:*

Correo: mhurtado@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: *log P, cromatografía de afinidad, Biosensores, biomateriales*

INTRODUCCIÓN

En el desarrollo farmacéutico, particularmente en las etapas tempranas de la investigación, la caracterización físico-química de las moléculas y la determinación de propiedades biológicas fundamentales (además de las posibles actividades farmacológicas observadas in vitro) resultan una parte crítica para la selección, diseño y predicción de las estructuras con el mejor desempeño farmacéutico.

Entre las características relevantes de los fármacos que afectan directamente la velocidad y extensión de la absorción se pueden mencionar: la solubilidad, el log P, la estabilidad metabólica, así como entre las propiedades farmacocinéticas particularmente importante la unión a proteínas plasmáticas. Esta serie de parámetros deben ser determinados durante el desarrollo de las moléculas para permitir tamizar las moléculas con las mejores características y reducir el número y costo de sus estudios. [1]

El método estándar para determinar solubilidad es el termodinámico a temperatura y condiciones constantes hasta alcanzar la saturación, los periodos de tiempo para alcanzar el equilibrio son de 24 horas y la cantidad de compuesto requerido para realizar la determinación son considerables, tomando en cuenta las curvas de saturación que deben obtenerse. [2]

El log P se suele evaluar de forma rutinaria por su comportamiento de distribución en un sistema bifásico (n-octanol/agua) o lo que conocemos como log D si este sistema se refiere a un compuesto ionizado en fase acuosa, controlado su grado de ionización mediante un fase amortiguada a un pH establecido.[3]

La determinación de unión a proteínas suele ser mediante un estudio de diálisis al equilibrio, requiriendo membranas semipermeables y prolongados periodos de tiempo para alcanzar el equilibrio entre los lados de la membrana.

Los estudios de genotoxicidad suelen ser en animales de laboratorio y en cultivos celulares. [4]

La propuesta del trabajo es diseñar los métodos y sistemas que permitan determinar las propiedades mencionadas de una manera ágil y obtener la información requerida en el proceso de la investigación a fin de realizar la selección de las moléculas con datos confiables obtenidos sistemáticamente en un menor tiempo.

Es posible la determinación de la lipofilidad de las moléculas mediante cromatografía de líquidos de alta resolución en fase reversa, ésta se basa en la relación que guarda el tiempo de retención y

la distribución de un analito en una fase estacionaria no polar. El cálculo del factor de retención es fundamental, ya que es relacionable con la lipofilidad en una escala logarítmica. [3]

La cromatografía de afinidad se define como un tipo de cromatografía que utiliza un agente biológico (ligando de afinidad) como fase estacionaria para retener analitos en función de interacciones que tienen lugar en sistemas biológicos (enzimas, anticuerpos, proteínas, receptores, DNA). El ligando de afinidad es inmovilizado dentro de la columna y usado para retener selectivamente analitos o bien evaluar sus afinidades. [5]

Por otra parte, los biosensores son instrumentos analíticos contruidos mediante la inmovilización de un ligando biológico, asociado a un trasductor fisicoquímico (electrodo) diseñados para que ocurra una reacción rápida entre el ligando y un determinado compuesto, dicha reacción es detectada de manera muy sensible por el trasductor generando una señal. [6]

La genotoxicidad es un tema de constante preocupación, no sólo para nuevas moléculas, sino también para productos de degradación y sustancias relacionadas es una prioridad de investigación [7]. El que los compuestos presenten afinidad por el ADN o presenten daños sobre las bases púricas puede alertar de riesgos de genotoxicidad. Los biomateriales permiten mediante:

- 1) Cromatografía de afinidad y análisis frontal fuera de línea, evaluar afinidad.
- 2) Con el uso de biosensores, detectar precozmente y con alta sensibilidad daño sobre la guanina o adenina, causado por moléculas genotóxicas.

OBJETIVO

El diseño y evaluación de métodos alternativos aplicables a la investigación Farmacéutica, para la caracterización fisicoquímica y determinación de propiedades biológicas básicas de moléculas sintetizadas o aisladas.

MATERIALES Y MÉTODO

PROPIEDAD	EQUIPO ANALÍTICO	MÉTODO
SOLUBILIDAD INTRÍNSECA	HPLC KNAUER SMARTLINE	TERMODINÁMICO
LOG P	HPLC VARIAN PROSTAR	RELACIÓN LIPOFILICIDAD vs FACTOR DE RETENCIÓN (FASE REVERSA ENDCAPING)
UNIÓN A PROTEINAS	HPLC KNAUER SMARTLINE	CROMATOGRAFÍA DE AFINIDAD EN LÍNEA-ANÁLISIS FRONTAL
AFINIDAD POR ADN	HPLC VARIAN PROSTAR	ANÁLISIS FRONTAL FUERA DE LÍNEA
GENOTOXICIDAD	PONTENSIOSTATO AUTOLAB	VOLTAMPEROMETRÍA DIFERENCIAL DE PULSO

RESULTADOS

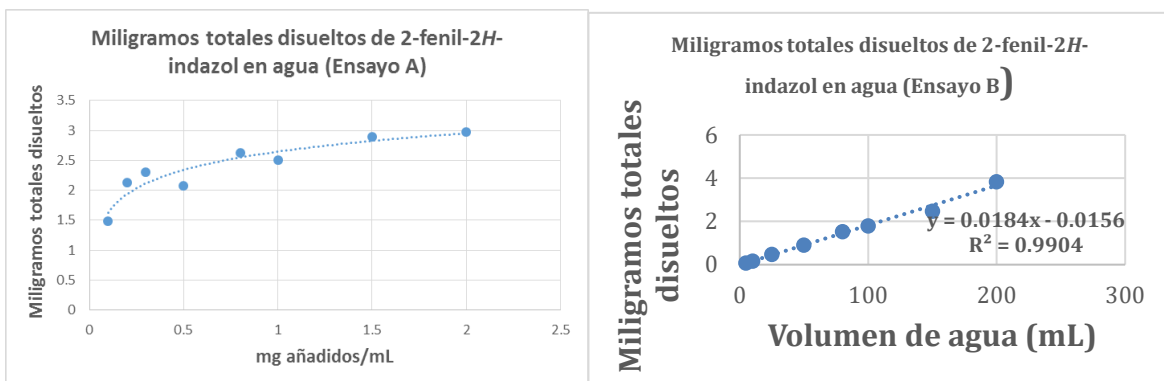


Figura 1. Determinación de solubilidad intrínseca de 2-fenil-1H.indazol

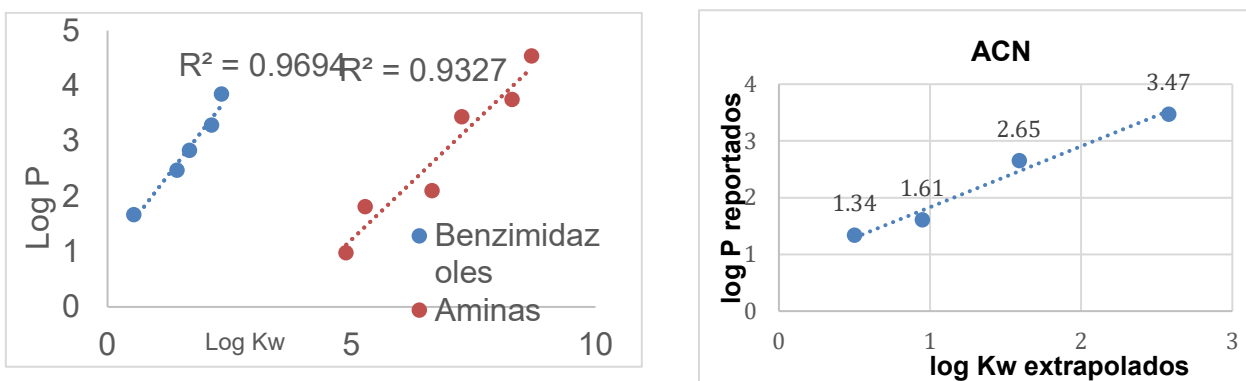


Figura 2. Relación lineal de log P vs Log KW

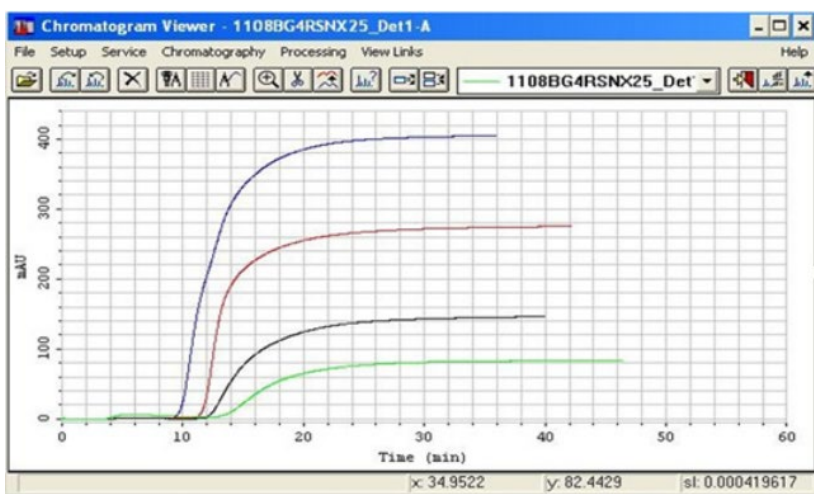


Figura 3. Típico análisis frontal (en línea) obtenido para la determinación de la constante de asociación entre albúmina y Naproxeno

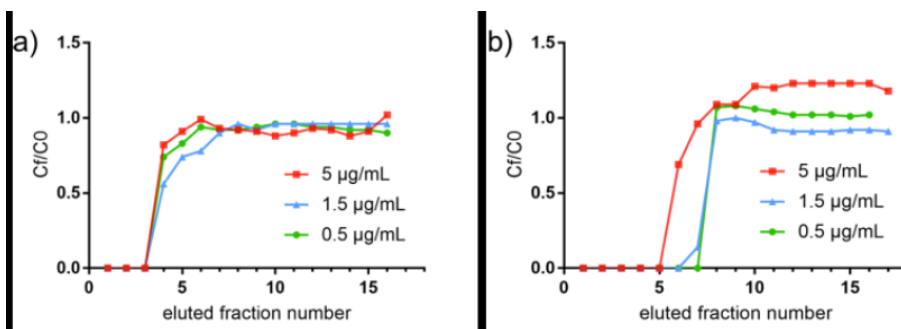


Figura 4. Típico análisis frontal fuera de línea para la interacción sulfóxido de albendazol/ ADN (a) gel blanco (b) gel con ADN (biogel).

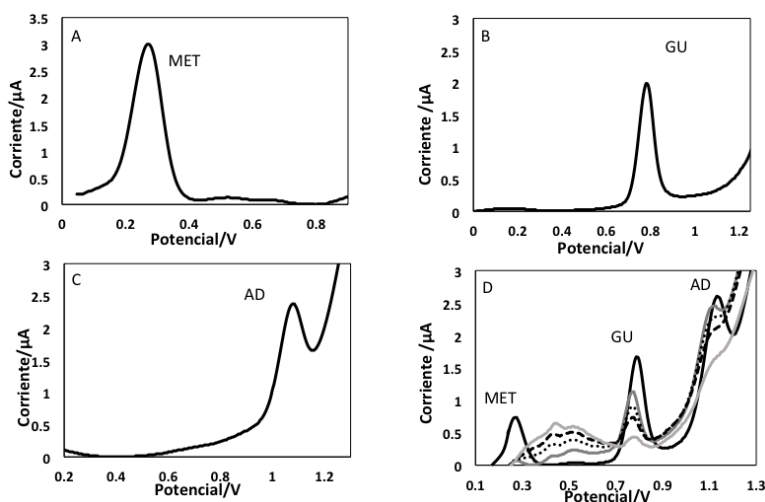


Figura 5. Análisis de la interacción metronidazol (MET) con guanina (GU) y andenina(AD)

Los resultados en el desarrollo de las metodologías para la caracterización fisicoquímica y biológica se resumen en las figuras 1,2,3,4 y 5.

La 1 y 2 corresponden a las determinaciones fisicoquímicas básicas: solubilidad y log p. La determinación de la solubilidad mediante el método termodinámico de equilibrio a la saturación manejando dos métodos, el normalmente realizado para este fin y el propuesto, que busca disminuir la cantidad de analito utilizado y obtener el valor de la solubilidad intrínseca de la pendiente, presentan algunas diferencias con respecto a la curva de saturación, ambos se compararan con el método cinético posteriormente.

La figura 2 presenta las curvas de relación lineal entre log K_w determinada a partir del factor de retención del analito en diferentes proporciones de fase orgánica en una columna de fase reversa, contra log P. Las curvas se agrupan por las estructuras de los fármacos, se observan en todos los casos linealidades aceptables. El objetivo es contar con regresiones de grupos grandes de fármacos

que permitan interpolar los datos de fármacos desconocidos para determinar el log P a partir de su log Kw determinado cromatográficamente.

Figura 3. En el análisis frontal el desplazamiento que se observa en las curvas de rompimiento conforme disminuye la concentración, es el indicador de la interacción de afinidad que tienen lugar en la columna el analito. La relación que guarda la concentración del analito y las moléculas retenidas en la columna de afinidad, nos permite determinar las constantes de afinidad.

En la figura 4 aplica el mismo principio que en la figura 3, el desplazamiento de la curva de rompimiento es el indicador de la interacción del analito y el ligando de afinidad inmovilizado en este caso en un cartucho fuera de línea.

Ambos sistemas diseñados para cromatografía de afinidad han demostrado la actividad que se buscaba determinar y se busca optimizar los sistemas de operación.

La figura 5a, muestra la respuesta típica del derivado de metronidazol (MET) obtenido por reducción electroquímica del fármaco, en la Figura 5b y c, se observa la señal electroquímica típica de las bases puricas de DNA, guanina y adenina respectivamente. La interacción entre el derivado de metronidazol y las bases puricas se presenta en el gráfico D, donde se observa un deterioro de las bases asociado a la disminución de la concentración de GU del 75% y desaparición de AD. La formación de nuevas especies ubicadas en 0.3 a 0.7V, son productos generados a partir de la interacción que se han asociado con la formación de la 8-oxoguanina y 2-8-oxoadenina [8].

CONCLUSIONES

- 1.- La determinación de la solubilidad intrínseca. Propiedad fundamental de las moléculas puede presentar algunas diferencias en sus resultados dependiendo del método utilizado, sin embargo, es importante subrayar que una determinación precoz y con sólo unos cuantos miligramos del compuesto puede ser suficiente como un dato aproximado para tomar decisiones de desarrollo.
- 2.- Las correlaciones entre Log P y Log Kw muestran que el método puede ser bastante aproximado con los datos de Log P reportados como un método para determinar el parámetro, con la ventaja de ser más rápido y al tratarse de un método cromatográfico la pureza del compuesto evaluado no es un requisito.
- 3.- Los valores de constantes de asociación a la albumina reportados en la literatura dependen en gran medida del método utilizado, sin embargo los valores para la constante encontrados con el sistema desarrollado mediante cromatografía de afinidad en línea, se encontraron cercanos los valores que varios autores han documentado.
- 4.- La inmovilización del ADN y la demostración de su actividad fuera de línea se considera todo un éxito, ya que la eficiencia de esta inmovilización se ha reportado como pobre, por otra parte, las aplicaciones que el sistema puede tener es muy importante, se debe seguir optimizando el procedimiento.
5. La respuesta de los biosensores, con ADN inmovilizado demuestra que es posible demostrar el daño causado por determinados agentes sobre la biomolécula, mediante este sistema.

Bibliografia

- 1.- Issa M.G. and Ferraz H.G. *Dissolution technol.* **2011**,8, 6-13
- 2.- Barrett J.A., Yang W., Skolnik S.M., Lisa M. Belliveau L.M., Patros K.M. *Drug Discov. Today* **2022**,27,1315-1326
- 3.- Kempinski D., Chmiel T., Kot-Wasik A., Anna Mr-oz A., Mazerska Z., Namie-snik J.. *TrAC* **2019**,113,54-73
- 4.-Eichenbaum G.,Johnson M., Kirkland D., O'Neill P., Stellar S., Bielawne J., DeWire R., Areia D., Bryant S., Weiner S., Desai-Krieger D., Guzzie-Peck P., Evans D.C. , Tonelli A. *Regul. Toxicol. Pharm.***2009**,55, 33–42
- 5.- Hage D.S., Anguizola J.A., Bi C., Li R.,Matsuda R.,Papastavros E., Pfaunmiller E., Vargas J., Zheng X.. *J. Pharm. Biomed.l Anal.* **2012**,69, 93-105
- 6.- Bankole O.E., Verma D.K., Chavez M.L., González J., Guzmán C., Sandoval-Cortés J., Aguilar C.N., *Food Biosci.* **2022**,47,1-28
- 7.- Galloway S.M., Vijayaraj M., Reddy M., McGettigan K.,t Gealy R., Joel Bercu J., *Regul Toxicol Pharm* **2013**,66,326-335
8. Oliveira-Brett A.M., Diculescu V., Piedade J.A.P. *Bioelectrochem.* **2002**, 55, 61–62

IMPACTO DEL AJUSTE DE DATOS IN-VITRO EN LA PREDICCIÓN DE LOS NIVELES PLASMÁTICOS: APLICACIÓN CON UN FÁRMACO ANALGÉSICO DE CLASE I

Jesús Jovany Hernández Osornio, Hedwyn Rodolfo Méndez Hernández, Marcela Hurtado y de la Peña, Juan Carlos Ruiz Segura, José Raúl Medina López.

Departamento Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Xochimilco

*Autor de correspondencia: José Raúl Medina López

Correo: rmlopez@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: *Ácido acetil salicílico, Ajuste no lineal, Disolución, Convolución, Perfil plasmático.*

INTRODUCCIÓN: Los perfiles de disolución son una herramienta importante en el diseño y evaluación de formas farmacéuticas sólidas o semisólidas cuyo fin es identificar la velocidad y grado de liberación del compuesto a partir de la matriz que lo contiene. Además, mediante un tratamiento matemático conocido como *convolución* es posible estimar el desempeño in-vivo de la formulación al calcular los niveles plasmáticos hipotéticos que los datos de disolución generarían y los parámetros farmacocinéticos estimados compararlos con datos reales obtenidos en un estudio de biodisponibilidad. El cálculo de un valor conocido como Predicción del Error (PE) menor a 15% indicaría que parámetros importantes como concentración plasmática máxima (C_{max}) y área bajo la curva de cero a infinito (ABC_{0-inf}) son similares entre datos estimados y observados y que la biodisponibilidad calculada por la técnica de convolución es similar a la registrada en un estudio in-vivo. En ocasiones, los perfiles de disolución presentan retos importantes en cuanto a la parte técnica u operativa y en otras, sobre los resultados obtenidos como lo es con fármacos de alta solubilidad que desde el primer tiempo de muestreo presentan valores de disolución $> 80\%$ y al final de la prueba la completa disolución de la dosis y no se observa con detalle la velocidad de disolución que en muchas ocasiones refleja la velocidad de absorción y, por lo tanto, la oportuna manifestación del efecto terapéutico. En estos casos, los perfiles plasmáticos obtenidos por convolución no describen el proceso de liberación y absorción ocurrido en el organismo y es necesario considerar otro tipo de análisis de datos a fin de predecir de mejor forma el perfil plasmático. Los ajustes no lineales son una alternativa al tratamiento de datos in-vitro y ayudan a estimar de mejor forma los resultados que se observarían en el organismo humano. Otro apoyo técnico u analítico representa el uso de la espectrofotometría derivativa que tiene la ventaja de identificar y cuantificar una mezcla de fármacos sin el uso de equipos como cromatógrafos y los disolventes tóxicos al medio ambiente que generan. Los resultados obtenidos con estas técnicas son similares a los obtenidos por cromatografía. Por otro lado, el ácido acetilsalicílico (Clase I) es un fármaco ampliamente conocido y muy utilizado como analgésico al administrarse solo o combinado con una dosis pequeña de cafeína que potencializa el efecto analgésico y reduce la administración del ácido acetilsalicílico y por consiguiente los efectos adversos que presenta. Las tabletas combinadas de dosis fija con este par de fármacos son muy utilizadas en el tratamiento de dolores crónicos como migraña. En México se encuentran disponibles medicamentos con dos dosis de los fármacos mencionados (500/30 mg y 650/65 mg) y como en el caso general de medicamentos combinados de dosis

fija los estudios de disolución de los compuestos involucrados y, sus datos estimados por convolución, son escasos.

OBJETIVO: Identificar la importancia del ajuste no lineal en el análisis de datos in-vitro de ácido acetilsalicílico y su repercusión en la predicción del desempeño in-vivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: Los perfiles de disolución de las tabletas del medicamento de referencia, con las dos dosis, se determinaron en el Aparato 2 USP (paletas) a 75 rpm con 900 ml de solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M pH 7.4. Se tomaron muestras de los vasos a los 10, 20, 30, 45 y 60 min y se realizaron diluciones adecuadas para obtener el espectro de absorción de orden cero de 200 a 350 nm de cada muestra. El intervalo de las curvas de calibración fue de 40-120 $\mu\text{g/ml}$ para ácido acetilsalicílico y de 5-25 $\mu\text{g/ml}$ para cafeína en el mismo medio de disolución. Los compuestos se cuantificaron al utilizar la primera derivada del espectro de absorción con cruces en cero a 245 nm para ácido acetilsalicílico y 295 nm para cafeína. A partir de los perfiles de disolución de ácido acetilsalicílico y con los parámetros farmacocinéticos k_d , V_d y F se calcularon perfiles plasmáticos por la técnica de convolución. Estos datos se ajustaron con el programa de ajuste no lineal PKSolver para calcular los valores de C_{max} y $ABC_{0-\text{inf}}$ y se compararon con los mismos parámetros, pero obtenidos de la literatura científica. Un valor de PE ($\text{PE} = \frac{\text{observado} - \text{estimado}}{\text{observado}} * 100 < 15\%$) resulta adecuado conforme a la normatividad internacional. Adicionalmente, y por el alto valor de porcentaje disuelto de ácido acetilsalicílico (>80%) desde el primer tiempo de muestreo, se estimaron datos de disolución cada 2 min hasta 30 min mediante el ajuste de los perfiles al modelo de la hipérbola ($y = ax/b + x$) (Sigmaplot versión 11) y con estos nuevos valores se procedió a re-calcular los perfiles de convolución, los datos de C_{max} y $ABC_{0-\text{inf}}$ y los valores de PE%.

RESULTADOS: En la Figura 1 se presentan los espectros de absorción de orden cero y orden uno de las curvas de calibración de ácido acetilsalicílico y cafeína y una solución con la mezcla de ambos compuestos a la misma concentración. En la Figura 2 se muestran los perfiles de disolución de ácido acetilsalicílico con los datos ajustados y sin ajustar y sus correspondientes perfiles de convolución. A fin de facilitar el análisis de las figuras únicamente se presentan los datos de las tabletas de dosis baja. Los perfiles de dosis alta fueron similares a los determinados con la dosis baja. En la Tabla 1 se observan los valores de PE% calculados después de ajustar tanto los datos de disolución como los perfiles plasmáticos estimados. En la tabla se presentan los resultados de ambas dosis y únicamente los de ácido acetilsalicílico. El ajuste de datos, tanto de disolución como de perfiles plasmáticos estimados por convolución, permitiría una mejor caracterización y diseño de una forma farmacéutica al relacionar parámetros farmacocinéticos hipotéticos con los valores reales.

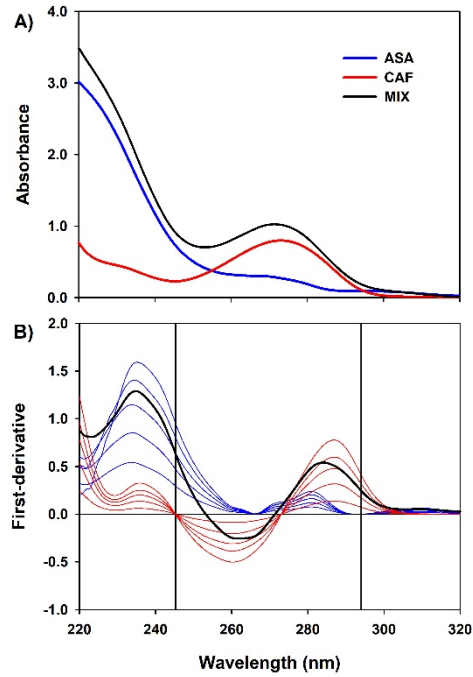


Fig 1. Espectros de absorción de ácido acetilsalicílico y cafeína.

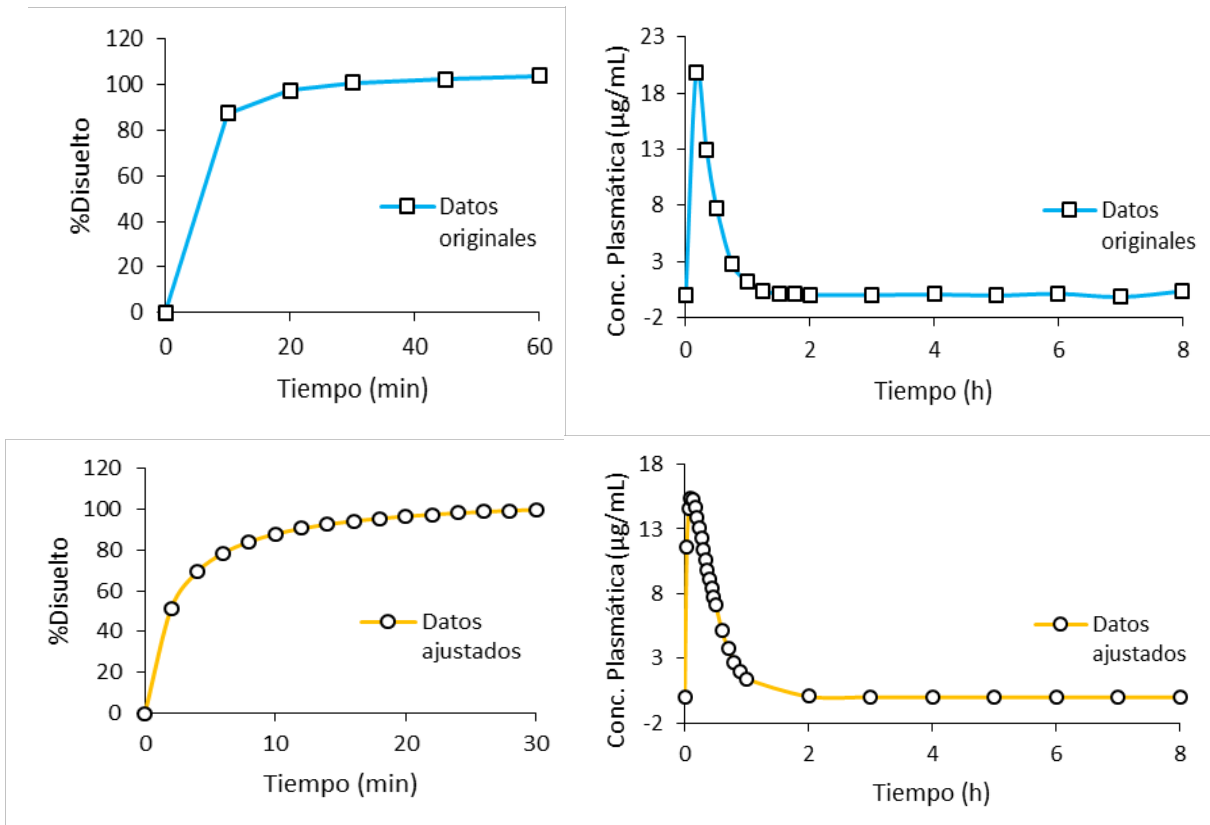


Fig. 2. Perfiles de disolución de ácido acetilsalicílico (izquierda) y perfiles plasmáticos obtenidos con los datos de disolución y el enfoque de convolución (derecha). Media, n= 12.

Tabla 1. Valores de predicción del error (%) de ácido acetilsalicílico en medicamentos combinados de dosis fija.

	Valores de Predicción del Error (%)			
	Dosis baja		Dosis alta	
	C _{max}	ABC _{0-inf}	C _{max}	ABC _{0-inf}
Originales	-41.41	-5.12	-42.45	-6.07
Ajustados	-12.93	2.87	-12.31	2.34

Los perfiles plasmáticos hipotéticos se calcularon hasta las 8 h debido a que en la literatura la determinación de los niveles plasmáticos en humanos se realizó hasta ese tiempo de muestreo. Por otro lado, los mejores resultados (PE<15%) se obtuvieron con los datos ajustados y únicamente hasta los 30 min ya que desde ese momento se logró la disolución completa de la dosis.

CONCLUSIONES: Para fármacos que desde el primer tiempo de muestreo del perfil de disolución presentan valores $\geq 80\%$ y alcanzan la disolución completa de la dosis en el último tiempo de muestreo es recomendable calcular valores de disolución menores de lo presentado en el primer tiempo de muestreo a fin de caracterizar mejor la velocidad de disolución y obtener un perfil plasmático estimado por convolución con una mejor representación del proceso de disolución y, por lo tanto, una mayor probabilidad de que el perfil plasmático hipotético sea similar al perfil reportado en la literatura científica.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Qureshi SA. *Open Drug Deliv J.* **2010**, *4*, 38-47.
2. Cuesta-Graguera, A.; Navarro-Fontestad, C.; Mangas-Sanjuan, V.; González-Álvarez, I.; García-Arieta, A.; Troncóniz, I.; Casabo, V., Bermejo, M. *Eur J Pharm Sci.* **2015**, *74*, 86-9.

LA TOXICIDAD SISTÉMICA AGUDA DEL TALIO EN RATAS PRODUCE ESTRÉS OXIDATIVO: ATENUACIÓN POR METALOTIONEÍNA.

Camilo Ríos Castañeda¹, T. Veronica Barón Flores¹, Araceli Díaz Ruiz², Méndez Armenta Marisela³

¹Laboratorio de Neurofarmacología Molecular, Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Ciudad de México..

²Laboratorio de Neuroquímica, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Ciudad de México.

³Laboratorio de Neuropatología experimental, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Ciudad de México.

*Autor de correspondencia: Dr. Camilo Ríos Castañeda

Correo: crios@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Metalotioneína; estrés oxidativo; glutatión reducido; toxicidad sistémica.

INTRODUCCIÓN:

Talio (Tl), uno de los elementos más tóxicos para organismos vivos. Incluso a bajas concentraciones¹, se han observado efectos tóxicos graves como consecuencia de la intoxicación por Tl en exposición aguda o crónica, el Tl muestra mayor toxicidad, en comparación con otros metales como el arsénico, cadmio, plomo y mercurio en diferentes organismos². Está catalogado como uno de los 13 contaminantes prioritarios por la Protección Ambiental (EPA) (USEPA 2014). La dosis oral segura de Tl es tan baja como 0.056 mg/d para humanos reportado por el Sistema de Información de Evaluación de Riesgos (RAIS 2003). Dosis bajas de Tl provocan nerviosismo Central síntomas de toxicidad del sistema, tales como: confusión, desorientación, y alucinaciones seguidas de ansiedad, depresión, falta de atención, así como problemas de memoria y deterioro de la fluidez verbal³. Asimismo, se observan síntomas generales de toxicidad, como alopecia, mientras que la sobredosis de Tl puede inducir disfunción, parálisis, síntomas de problemas internos sangrado e incluso la muerte. Estudios recientes reconocen que la contaminación por Tl está presente en los sedimentos de varios países: España, Italia, China, Inglaterra y México entre otros, derivados de la contaminación de acuíferos como ríos y mares⁴. En México se ha informado la presencia y distribución geoquímica de Tl en diferentes explotaciones minero-metalúrgicas. Los principales casos de intoxicación humana se reportan por causas accidentales en el trabajo, la talotoxicosis crónica en humanos puede ocurrir debido al consumo de vegetales y frutos contaminados con Tl provenientes de tierras de cultivo ubicadas en las inmediaciones de las plantas de cemento, incineradores municipales y fábricas de ácido sulfúrico. Las sales Tl son solubles, inodoras, insípidas y altamente tóxicas, por esta razón, fue ampliamente utilizado en rodenticidas e insecticidas⁵. Los signos y síntomas gastrointestinales por intoxicación se manifiestan por diarrea y vómito, alteraciones dermatológicas, cardíacas y disfunciones neurológicas⁶. Se ha demostrado que el Tl induce

un aumento en los niveles de especies reactivas de oxígeno y disfunción mitocondrial en las neuronas primarias de hipocampo de embriones de rata Wistar y se activan vías de protección endógenas en el cerebro. El mecanismo de toxicidad del talio se basa en la inhibición de enzimas específicas de la glucólisis, ciclo de Krebs y fosforilación oxidativa. Esas inhibiciones producen un agotamiento de los niveles de ATP. Tl tiene una alta afinidad para los grupos sulfhidrilo de aminoácidos tales como cisteína y metionina, asimismo aumenta la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que juegan un papel importante en el tejido cerebral y daño hepático por peroxidación lipídica (LP)⁷. Por otro lado, la metalotioneína (MT) es una familia de proteínas de bajo peso molecular formadas por 61–68 aminoácidos de los cuales el 20% son cisteínas distribuidas en dos dominios a y b y 7 iones metálicos divalentes unidos⁸. Tres isoformas de proteínas (MT-I, MT-II y MT-III) han sido identificados en el sistema nervioso central y tejidos periféricos. Se sabe que MT tiene una alta afinidad por metales divalentes como Cu y Zn, aunque también ha demostrado alta afinidad por metales tóxicos como el cadmio y mercurio dando lugar a grupos de tiolato de metal, por lo que desempeña un papel en la homeostasis/desintoxicación de metales y captación radical⁹.

OBJETIVO (S):

Evaluar el efecto antioxidante de MT-I y MT-II de ratas tratadas con una dosis subletal de acetato de talio sólo o en combinación con PB.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se utilizaron ratas Wistar macho con un peso de 200 a 250 g del bioterio del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, se alojaron cuatro por jaula acrílica y se mantuvieron bajo condiciones estándar de laboratorio (12:12 luz–ciclos oscuros, 23 ± 2 C) y 40 % de humedad relativa, tenían libre acceso a alimentos y agua. Todos los experimentos se realizaron de acuerdo a las especificaciones técnicas de la Norma Oficial Mexicana NOM 0062-ZOO-1999. Los procedimientos experimentales fueron aprobados por el Comité de Bioética del INNN 135/18.

Tratamientos: Se administraron 16 mg/kg de acetato de Tl por vía ip comprado a Sigma-Aldrich, 24 horas después, los animales fueron asignados al azar en cada uno de los seis grupos de tratamiento: Tl + Veh: acetato de talio más vehículo; Tl +PB: 50 mg/kg dos veces al día (p.o.) durante cuatro días; MT-100: Tl más dosis única de MT (i.p.) PB: Tl más PB 50 mg/kg dos veces al día (p.o.) durante cuatro días; Tl más dosis única de MT (i.p) (100 lg/rata) usando solución salina como vehículo; PB + MT-100: Tl más PB en combinación con MT-100; MT-600: Tl más dosis única (i.p) de MT (600 lg/rata), PB + MT-600: Tl y PB en combinación con MT-600. Asimismo, incluimos un control sano (HC) grupo (n = 5) para conocer los valores normales, solo para estudios de funciones renales y hepáticas e histología. Finalmente, todos los animales fueron sacrificados por decapitación (sobredosis de anestesia previa con ketamina/xilazina) 5 días después de la intoxicación con Tl para obtener la concentración de Tl en los órganos del cuerpo y las regiones del cerebro.

Ensayo de glutatión reducido

El contenido tisular de glutatión reducido (GSH) se determinó como describen Hissin y Hilf (1976). Diariamente, se preparó un estándar de GSH en fosfato de sodio 0,1 M, tampón EDTA 5 mM (pH 8) y se mantuvo en hielo hasta su uso. Asimismo, se preparó una solución de o-ftalaldehído (OPA) en metanol absoluto grado reactivo, inmediatamente antes de su uso. Las muestras de tejido se homogeneizaron en 3,75 ml de tampón EDTA-fosfato (pH 8,0) más 1 ml de HPO₃ (25 %). Los sobrenadantes se separaron de dichos homogeneizados después de centrifugarlos a 3000xg durante 15 min. Se añadieron alícuotas de quinientos microlitros de sobrenadante a 4,5 ml de tampón fosfato más 100 l de o-ftalaldehído.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis exploratorio de los datos para determinar la distribución normal (prueba de Kolmogorov-Smirnov) y homogeneidad de varianzas (prueba de Levene). Para obtener una distribución normal de los datos, se aplicó una transformación logarítmica y luego, los valores logarítmicos se analizaron mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba de Dunnett. Todos los análisis se realizaron con el software SPSS 22.0 (Chicago, Illinois, EE. UU.). Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando $p < 0,05$.

RESULTADOS

El efecto citoprotector observado en los biomarcadores renales y hepáticos se debe a un efecto antioxidante que ejerce la MT, se evaluaron los niveles de GSH en los tejidos. Los resultados se muestran en la Fig. 1, los valores se expresan como la media \pm SEM de 6-7 animales por grupo, en μmol de GSH por gramo de tejido. Como se ve claramente, el GSH renal en el HC fue de $1,15 \pm 0,32$, mientras que en el Tl + Veh, se observó un valor promedio de $0,40 \pm 0,04$, lo que representa una disminución de 65,23% con respecto al grupo HC. Asimismo, en el grupo PB observamos un valor promedio de $0,52 \pm 0,05$ y en MT-600 fue de $0,73 \pm 0,09$. Finalmente, en el PB + MT-600 el valor promedio fue de $0,67 \pm 0,26$. Solo el grupo de MT-600 mostró un aumento del 83 % en los niveles de GSH en comparación con el Tl + Veh, esta diferencia fue estadísticamente significativa. ANOVA unidireccional seguido de post hoc de Dunnett estimada $*p < 0.05$. En cuanto a los resultados hepáticos, no se observaron diferencias entre los grupos evaluados (datos no mostrados).

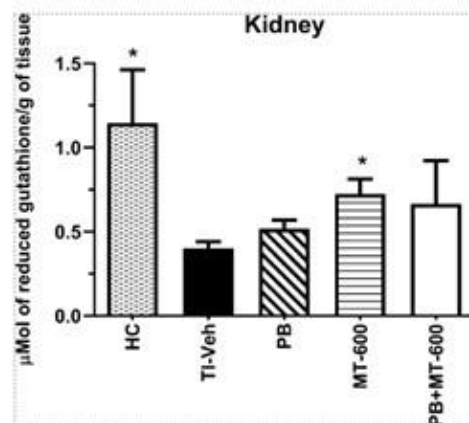


Figura 1

Examen histopatológico

MT elimina los niveles de talio en tejidos de importancia metabólica como el pulmón, el hígado, y también en las dos regiones del cerebro que contienen las concentraciones más altas de talio, como el hipotálamo y el cerebelo. El efecto sistémico de la MT no produjo una redistribución indeseable de la Tl al sistema nervioso central (órgano diana de la talotoxicosis), como se ha observado tras la administración de otros agentes quelantes, como la D-penicilamina o tioles endógenos como la L- cisteína, dado que la MT no puede cruzar la barrera hematoencefálica, entonces es posible que un supuesto complejo Tl-MT no pueda ser capaz de cruzar al cerebro para producir una redistribución del metal. En particular, la administración de 600 lg de MT mostró un aumento sistémico, más que cerebral, de las concentraciones renales de Tl producido por una redistribución del metal hacia el riñón. En este estudio, la acumulación hepática de Tl disminuyó con ambas dosis de MT (100 o 600 lg), es importante señalar que la mayoría de los efectos de la MT no fueron dependientes de la dosis en los órganos del cuerpo y las regiones del cerebro, lo que sugiere que la dosis más baja de MT (100 lg/rata) logra el efecto máximo de la proteína en la decorporación de Tl. . De hecho, la dosis más alta de MT empleada (600 lg/rata), fue la que produjo un efecto redistributivo sobre la Tl renal. Los resultados se muestran en la figura 2.

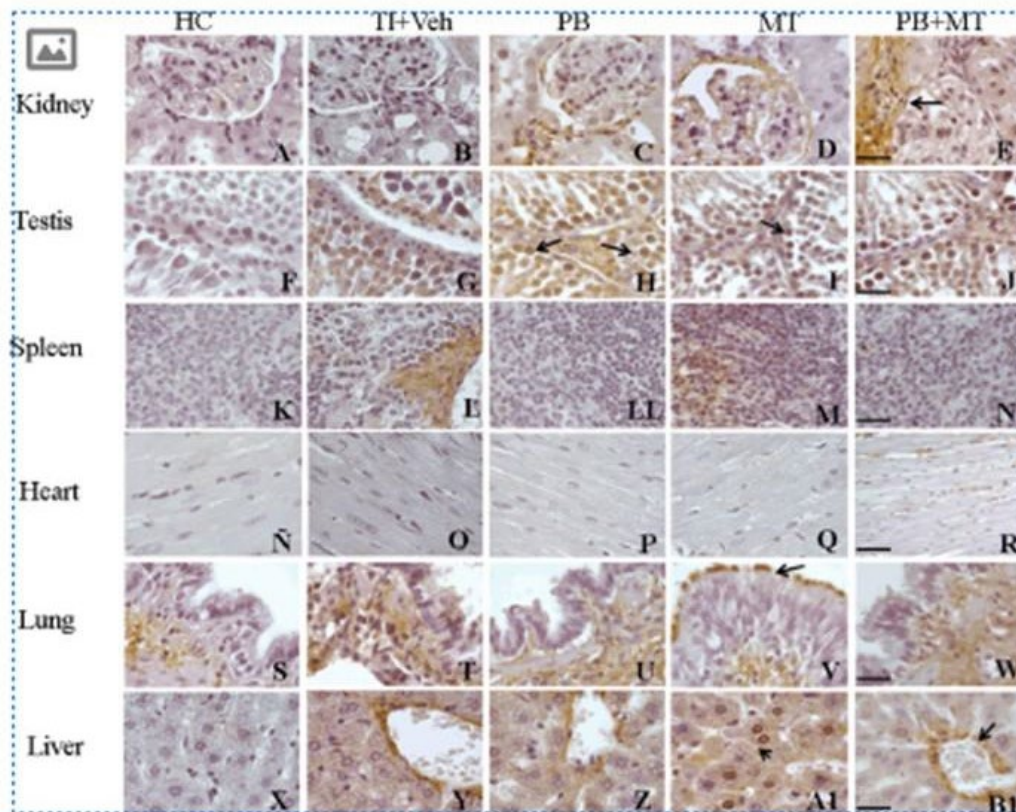


Figura 2

CONCLUSIONES:

Teniendo en cuenta que varios informes mostraron que la exposición a Tl, incluso en concentraciones muy bajas, representa una amenaza para la salud humana y que la exposición a Tl es un problema cada vez más global, los resultados del presente estudio muestran que la MT administrada sola o en combinación con PB poseen una acción citoprotectora, debido a un doble mecanismo: al disminuir las concentraciones de Tl en órganos ejercidas por PB y al aumentar la actividad antioxidante acciones MT debido a su capacidad para prevenir estrés oxidativo inducido por Tl.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Bramanti, E.; Onor, M.; Colombaioni, L. *Chem Neurosci* **2019**, *10*, 451–459.
2. Duan, W.; Wang, Y.; Li, Z.; Fu, G.; Mao, L.; Song, Y. *Environ Pollut.* **2020**, *258*, 113319.
3. Osorio-Rico, L.; Santamaria, A.; Galván-Arzate, S. *Adv Neurobiol.* **2017**, *18*, 345–353
4. Li, N.; Zhou, Y.; Liu, J.; Tsang, DCW.; Wang, J; She, J. *Ecotoxicol Environ Saf.* **2020**, *202*,110874.
5. Wang, C.; Chen, Y.; Liu, J; Wang, J. Li, X.; Zhang, Y.; Liu, Y. *Ecotoxicol Environ Saf.* **2013**, *90*, 76–81.
6. Penclova, D.; Urban, P.; Ridzon, P.; Senholdová, Z.; Lukás, E.; Diblík, P.; Lacina, L. (2009) *Hum Exp Toxicol.* **2009**, *28*, 263–272.
7. Galván-Arzate, S. Y Santamaría, A. (1998) *Toxicol Lett.* **1998**, *99*, 1–31.
8. Nordberg, M. Y Nordberg, G.F. (2000) *Cell Mol Biol.* **2000**, *46*, 451–463.
9. Juárez-Rebollar, D.; Rios, C.; Nava-Ruíz, C.; Méndez-Armenta, M. (2017) *Oxid Med Cell Longev* **2017**, <https://doi.org/10.1155/2017/5828056>.

EL PRAMIPEXOL INHIBE LA HIPERSENSIBILIDAD DE LARGO PLAZO INDUCIDA POR FORMALINA VÍA NF-κB

Beatriz Godínez-Chaparro^{**} (expositor), Jazmin Santamaria-Anzuress[†], Julia Pérez-Ramos[#], Felipe Mendoza-Pérez[#]

[†]Laboratorio de Farmacodinamia de Inflamación y Dolor, Departamento Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Ciudad de México, México

[#]Laboratorio de Biología Experimental, Departamento Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Ciudad de México, México

*Autor de correspondencia: Beatriz Godínez Chaparro
Correo: bgodinez@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: dolor, nocicepción, pramipexol, NF-κB

INTRODUCCIÓN: La dopamina juega un papel potencial en la antinocicepción y la analgesia ^[1]. Esto ocurre principalmente a través de la activación de los receptores D₂ (y probablemente D₃) ^[2]. Los bajos niveles de dopamina contribuyen a los síntomas dolorosos que presentan los pacientes con enfermedad de Parkinson, fibromialgia y neuropatía diabética ^[3,4]. Sin embargo, los mecanismos por los cuales la dopamina o los agonistas de los receptores D₂/D₃ ejercen un efecto antialodínico y/o antihiperalgésico no se conocen por completo.

El factor nuclear kappa B (NF-κB) es un factor de transcripción expresado que participa en la regulación no solo de la respuesta inmunitaria, la inflamación y la apoptosis, sino también en el desarrollo y el mantenimiento del dolor patológico ^[5]. En la vía canónica, la forma inactiva de NF-κB está compuesta por los dímeros de NF-κB inactivos, como el heterodímero p50/p65, asociado con el inhibidor de NF-κB llamado IκB en el citoplasma ^[6]. Después de la activación, IκB se fosforila y posteriormente se degrada a través del sistema ubiquitina-proteosoma. A continuación, el NF-κB se traslada al núcleo para regular la transcripción de citocinas inflamatorias, incluido el factor de necrosis tumoral (TNF) -α, la interleucina (IL) -1β, la IL-6 y mediadores como el óxido nítrico (NO) ^[7], capaces de activar y sensibilizar a los nociceptores. Lo anterior, sugiere que limitar la producción de estos mediadores inflamatorios podría ser un tratamiento eficaz para el dolor inflamatorio. Existe evidencia de que la dopamina atenuó la expresión de citocinas proinflamatorias inducida por LPS al inhibir NF-κB-p65 a través de la formación de dopamina quinona en las células de la microglía ^[8], lo que sugiere que la dopamina o el agonista de la dopamina pueden ser útiles tales como agentes antiinflamatorios y antinociceptivos.

El pramipexol (PPX) es un compuesto que agoniza selectivamente los receptores tipo D₂ de dopamina, prefiriendo los receptores D₂/D₃ ^[9]. PPX se utiliza para el tratamiento de los síntomas motores de la enfermedad de Parkinson, síndrome de piernas inquietas ^[10], trastorno bipolar ^[11], depresión clínica ^[12], ansiedad ^[13], fibromialgia ^[4,14] en humanos. Además, PPX

ha demostrado propiedades antiinflamatorias y antinociceptivas. PPX previene el desarrollo de la inflamación inducida por carragenina, formalina y TPA [15]. Además, estudios han demostrado que PPX inhibe la hipersensibilidad nociceptiva térmica [4,16] y mecánica [17,18] en animales con Parkinson s enfermedad, fibromialgia, y dolor inflamatorio. En conjunto, esta evidencia sugiere la utilidad potencial de PPX como agente analgésico. Sin embargo, sigue sin estar claro el mecanismo de acción que subyacente al efecto antialodínico y antihiperalgésico inducido por el PPX. Sobre esta base, en este estudio, determinamos el efecto de la administración sistémica aguda de PPX en la respuesta de hipersensibilidad duradera inducida por formalina en ratas. Además, buscamos investigar si el efecto antialodínico y antihiperalgésico inducido por PPX es mediado por la vía de señalización de NF- κ B.

OBJETIVO (S): Determinamos el efecto de la administración sistémica aguda de PPX en la respuesta de hipersensibilidad duradera inducida por formalina en ratas. Además, buscamos investigar si el efecto antialodínico y antihiperalgésico inducido por PPX es mediado por la vía de señalización de NF- κ B.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se utilizaron ratas machos Wistar de 200-230g (UPEAL-Biotero UAM-Xochimilco, No. protocolo 214). Se administró formalina al 1% intraplantalmente para inducir la hipersensibilidad (alodinia e hiperalgnesia mecánica) de largo plazo. La alodinia y la hiperalgnesia mecánica secundarias fueron evaluadas por el método de respuesta de retiro de la pata con los filamentos de von Frey.

RESULTADOS: El post-tratamiento sistémico agudo con PPX (3 mg/kg, i.p.) revirtió la alodinia y la hiperalgnesia mecánica secundarias de larga duración inducida por formalina en ratas. Además, el PPX inhibió la expresión proteica de NF- κ B-p65, e inhibió los niveles de TNF- α e IL-1 β en la médula espinal de animales con alodinia e hiperalgnesia mecánica secundaria inducidas por formalina.

CONCLUSIONES: Estos datos sugieren que el PPX produce efectos antialodínico y antihiperalgésico en ratas con dolor inflamatorio y pueden estar mediados por la vía de señalización de NF- κ B.

BIBLIOGRAFÍA:

- [1] P. B. Wood, *Expert Rev Neurother* **2014**, *5*, 781–797.
- [2] H. Mansikka, E. Erbs, E. Borrelli, A. Pertovaara, *Brain Res.* **2005**, *1052*, 82–87.
- [3] J. Peng, L. Xie, F. F. Stevenson, S. Melov, D. A. Di Monte, J. K. Andersen, *J. Neurosci.* **2006**, *26*, 11644–11651.
- [4] C. Martins, R. Paes, G. Baldasso, E. Ferrarini, R. Scussel, R. Zaccaron, R. Machado-De-Avila, P. Lock Silveira, R. Dutra, *Neural Regen. Res.* **2022**, *17*, 450–458.
- [5] E. Niederberger, G. Geisslinger, *FASEB J.* **2008**, *22*, 3432–3442.
- [6] Y. Feng, Y. Lu, *Front. Immunol.* **2021**, *12*, DOI 10.3389/fimmu.2021.663102.
- [7] M. Kanngiesser, A. Häussler, T. Myrczek, N. Küsener, H. Y. Lim, G. Geisslinger, E. Niederberger, I. Tegeder, *J. Pain* **2012**, *13*, 485–497.
- [8] Y. Yoshioka, Y. Sugino, A. Yamamuro, Y. Ishimaru, S. Maeda, *J. Pharmacol. Sci.* **2022**, *148*, 41–50.
- [9] S. M. Wilson, M. G. Wurst, M. F. Whatley, R. N. Daniels, *ACS Chem. Neurosci.* **2020**,

11, 2506–2512.

- [10] X. Zhou, J. Du, Y. Liang, C. Dai, L. Zhao, X. Liu, C. Tan, L. Mo, L. Chen, *Front. Neurosci.* **2021**, *15*, 1395.
- [11] A. Tundo, R. De Filippis, F. De Crescenzo, A. Tundo, *Acta Psychiatr Scand* **2019**, *140*, 116–125.
- [12] D. Q. Jiang, L. L. Jiang, Y. Wang, M. X. Li, *Asian J. Psychiatr.* **2021**, *61*, DOI 10.1016/J.AJP.2021.102691.
- [13] N. Ji, P. Meng, B. Xu, X. Zhou, *Am. J. Transl. Res.* **2022**, *14*, 1757–1764.
- [14] A. J. Holman, R. A. Neiman, R. E. Ettliger, *J. Musculoskelet. Pain* **2004**, *12*, 69–74.
- [15] H. Sadeghi, M. Parishani, M. A. Touri, M. Ghavamzadeh, J. Barmak, V. Zarezade, H. Delaviz, H. Sadeghi, M. Jafari Barmak, **2017**, DOI 10.1080/08923973.2017.1284230.
- [16] L. F. Cao, X. Y. Peng, Y. Huang, B. Wang, F. M. Zhou, R. X. Cheng, L. H. Chen, W. F. Luo, T. Liu, *Neural Plast.* **2016**, *2016*, DOI 10.1155/2016/6383240.
- [17] S. Edwards, C. N. Callicoaate, A. E. Barattini, J. A. Cucinello-Ragland, A. Melain, K. N. Edwards, N. W. Gilpin, E. M. Avegno, A. R. Pahng, *Neuropharmacology* **2022**, *208*, DOI 10.1016/J.NEUROPHARM.2022.108976.
- [18] H. A. Romero-Sánchez, L. Mendieta, A. M. Austrich-Olivares, G. Garza-Mouriño, M. Benitez-Diaz Mirón, A. Coen, B. Godínez-Chaparro, *Eur. J. Pharmacol.* **2019**, 172814.

Área

*Obtención y Producción de Compuestos
Orgánicos*

Ponencias

LA RED DE INNOVACIÓN DE JOSÉ ERDOS BLAU EN EL SECTOR FARMACÉUTICO MEXICANO (1940-1970)

*Aceves Pastrana Patricia; Schifter Aceves, Liliana; Godínez Reséndiz Rogelio**
Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco.

**Autor de correspondencia: paceves@correo.xoc.uam.mx*

Palabras clave: *José Erdos Blau, Sector Farmacéutico*

Resumen

Desde mediados del siglo XIX hasta principios del XX, los países que lideraban la fabricación de productos medicinales eran Alemania, Suiza, Inglaterra y los Estados Unidos. En estas naciones se fundaron muchas de las compañías farmacéuticas más importantes, que cada año generaban una gran cantidad de innovaciones, de patentes, que después se comercializaban a escala global.

El desarrollo tecnológico de medicamentos en México también comenzó en la segunda mitad del siglo XIX, sin embargo, fue hasta el periodo posrevolucionario (1917-1940), cuando surgió una industria farmacéutica en México debido a que distintas compañías europeas y estadounidenses decidieron invertir e instalar sus filiales en el mercado local. A la par, algunos empresarios mexicanos, junto a capitalistas foráneos avecindados en nuestra nación, incursionaron en la fabricación masiva de medicamentos. Por su parte, algunas boticas y farmacias particulares, se convirtieron en pequeñas empresas productoras.

Fue hasta después de la Segunda Guerra Mundial, cuando hubo un crecimiento importante de la investigación farmacéutica en el ámbito nacional, el cual obedeció al establecimiento de instituciones públicas y compañías privadas interesadas en realizar esta actividad. Así, durante los años cuarenta y cincuenta del siglo XX gracias a las iniciativas de empresarios y científicos extranjeros refugiados en México, se formaron las primeras redes en el sector farmacéutico que le permitieron al país iniciar líneas propias de investigación para el aprovisionamiento de su mercado interno. Algunas de estas redes fueron tan exitosas que convirtieron a ciertas compañías farmacéuticas de capital mexicano en líderes mundiales en la síntesis de materias primas terapéuticas, este fue el caso, ya muy estudiado de Syntex. Esta compañía fue fundada en 1944, por el químico estadounidense Russell Marker y los empresarios europeos Federico A. Lehmann y Emeric Somlo. A través del fomento científico y de una vinculación estrecha con el Instituto de Química de la UNAM, Syntex revolucionó la síntesis habitual de hormonas esteroides al fabricar progesterona, testosterona y desoxicorticosterona a partir de saponinas de plantas mexicanas. Esto la convirtió en la líder mundial en el abastecimiento de precursores hormonales.

No obstante, durante la segunda mitad del siglo XX, surgió otra red encabezada por el científico húngaro-mexicano José Erdos Blau, uno de los principales personajes en la producción patentes locales quien se había titulado en Budapest de Ingeniero Químico y de Doctor en Bioquímica. Después de su llegada a México en 1939, se incorporó a los Laboratorios Hormona, pero para 1941 pasó a formar parte de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB) perteneciente al Instituto Politécnico Nacional.

El objetivo de este artículo es analizar la red de innovación que Erdos creó alrededor de la ENCB con la colaboración de diversas empresas y, mostrar que esta red se convirtió en una de las más relevantes del sector farmacéutico mexicano, impulsando considerablemente la investigación en el campo de la química orgánica y el desarrollo de medicamentos.

Este estudio comienza en 1940, con la realización de los primeros trabajos del químico húngaro y termina, en 1970, cuando este científico se jubila de la ENCB. Para cumplir con los objetivos planteados, examinamos principalmente fuentes primarias constituidas por las patentes farmacéuticas registradas durante esta etapa en territorio mexicano, resguardadas en el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI) y por documentación proveniente de los archivos y revistas de la época. Cabe destacar que, las investigaciones históricas dedicadas al análisis de las patentes generadas en estos años, en el ámbito farmacéutico local, son muy escasas.

Nuestra investigación muestra que entre 1940 y 1970, en el sector farmacéutico mexicano se creó un sistema fragmentado, donde la innovación se dio en forma intermitente resultante de esfuerzos individuales y de casos aislados. Así, siguió predominando la falta de vínculos entre las entidades científicas y, en estas tres décadas, el sector farmacéutico del país solo fue capaz de crear dos redes de innovación exitosas: Syntex-Laboratorios Hormona-Instituto de Química y José Erdos Blau-ENCB-IPN.

Durante este periodo, Erdos Blau logró conformar una de las redes de innovación más exitosas del sector, que impulsó el desarrollo de la química orgánica de aplicación medicinal y el registro de patentes farmacéuticas de origen mexicano, destinadas principalmente al área de los productos opoterapéuticos y hormonales. Esta red fue creada gracias a la vinculación de Erdos con diversas empresas farmacéuticas y al apoyo de su institución, la ENCB del IPN. Asimismo, en estos años, las redes de Erdos y de Syntex fueron las principales generadoras de invenciones e innovaciones locales, colocando a México en una posición importante en el escenario farmacéutico mundial. Sin embargo, en la segunda mitad de los años cincuenta y durante los sesenta (sobre todo después de la venta de Syntex), el país no pudo seguir produciendo innovaciones de manera continua y se profundizó la dependencia científica y tecnológica con el extranjero.

Bibliografía

1*Exalumno del Doctorado de Ciencias Biológicas y de la Salud. Este trabajo deriva de su tesis doctoral.

Rodríguez Nozal, Raúl y González Bueno, Antonio, *Entre el arte y la técnica. Los orígenes de la fabricación industrial del medicamento*, Madrid, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 2005.

2 Godínez Reséndiz, Rogelio y Aceves Pastrana, Patricia, “El surgimiento de la industria farmacéutica en México (1917-1940)”, en *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 45:2 (2014), pp. 55-68.

3 Lehmann, Pedro A., “Early history of steroid chemistry in Mexico: the story of three remarkable men”, en *Steroids*, 57:8 (1992), pp. 403-408; León, Felipe, “Syntex, una historia mexicana y su divulgación en el bachillerato”, en *Educación Química*, 12:3 (2001),

pp. 175-178; Hernández-García, Yoscelina I., et al., “The Scientific Impact of Mexican Steroid Research 1935–1965: A Bibliometric and Historiographic Analysis”, *Journal of the Association for Information Science & Technology*, 67:5 (2016), pp. 1245-1256; Soto Laveaga, Gabriela, *Laboratorios en la selva. Campesinos mexicanos, proyectos nacionales y la creación de la píldora anticonceptiva*, México, Fondo de Cultura Económica, 2020.

4 Syntex Laboratories Inc., *Una corporación y una molécula: historia de la investigación en Syntex*, México, Impresión de Litoarte, 1967.

5 “Currículum Vitae- José Erdos”, DCH-IPN, 19 de enero de 1945; “José Erdos, una vida dedicada a la química”, en *Revista de la Sociedad Química de México*, 27 (1983), p. 39.

6 INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL, *Anuario de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas*, México, Secretaría de Educación Pública, 1943.

7 Los resultados de esta investigación recién se publicaron en: GODÍNEZ RESÉNDIZ, Rogelio; ACEVES, PASTRANA, Patricia; SCHIFTER ACEVES, Liliana, “La red de innovación de José Erdos Blau en el sector farmacéutico mexicano (1940-1970)”, *Historia Mexicana*, 72: 1 (2022), pp. 251-96.

8 “Carta de José Erdos Blau al Director de la ENCB Jorge Zúñiga Nájera”, DCH-IPN, 2 de febrero de 1970.

9 GODÍNEZ RESÉNDIZ, Rogelio, “Investigación, innovación e industria farmacéutica en México (1940-1970)”, tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, México, Universidad Autónoma Metropolitana, 2018.

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE DOS PLANTAS USADAS EN LA MEDICINA TRADICIONAL

Ernesto Sánchez Mendoza[†], Salud Pérez Gutiérrez[†] Nimsi Campos Xolalpa[†].

[†]Departamento de Sistemas Biológicos y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Xochimilco. *Autor de correspondencia: Ernesto Sánchez Mendoza. Correo: esanchez@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: inflamación, metabolitos secundarios, piquerol, 3,5-diprenil-4-hidroxi-acetofenona.

INTRODUCCIÓN:

La inflamación es una respuesta del organismo a diferentes estímulos tales como infecciones, daños físicos o químicos. Aunque existen una gran cantidad de fármacos, la gran mayoría de ellos presenta efectos adversos, en particular cuando son prescritos por períodos prolongados de tiempo. En ese contexto es necesario continuar con la búsqueda de compuesto que posean actividad antiinflamatoria y una baja toxicidad. Las plantas son una fuente importante de compuestos con esta actividad. Por ello, el presente trabajo se basa en el aislamiento, caracterización estructural y evaluación de la actividad antiinflamatoria de dos compuestos aislados de las plantas *Piqueria trinervia* y *Ageratina pazcuarensis*, ambas tienen como antecedentes que se han sido usadas en la medicina tradicional para tratar problemas asociados a la inflamación.^[1]

OBJETIVO (S):

Aislar, caracterizar y evaluar la actividad antiinflamatoria de dos compuestos aislados de *Piqueria trinervia* y *Ageratina pazcuarensis*

MATERIALES Y MÉTODOS:

La planta *Piqueria trinervia* fue colectada en la carretera 70, Río Verde. San Luis Potosí, La planta *Ageratina pazcuarensis* fue colectada en el municipio de Huitzilac, Morelos. En ambos casos se obtuvieron las partes aéreas por poda ecológica. Posteriormente se dejaron secar a la sombra y se molieron.

Los extractos de ambas plantas se obtuvieron por maceración empleando disolventes de diferentes polaridades; los compuestos se aislaron por métodos químicos y físicos con base en una separación biodirigida y empleando el modelo de edema auricular en ratón inducido por 13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (TPA) para monitorear la actividad antiinflamatoria^[2] de los extractos, fracciones y compuestos de ambas plantas.

Los compuestos activos aislados de *Piqueria trinervia* y *Ageratina pazcuarensis* fueron caracterizados por espectros de RMN 1D (¹H y ¹³C) y 2D (HSQC, HMBC, COSY y H2BC). Los pesos moleculares de ambos compuestos fueron determinados por MS-ESI y MS-EI.

Para conocer el mecanismo por el cual los compuestos aislados inducen actividad antiinflamatoria a nivel celular, se evaluó su viabilidad celular en macrófagos J774.1 por medio del ensayo de MTT^[3]: En una placa de 96 pozos fueron sembrados 5X10³ macrófagos por pozo, los cuales fueron tratados con los compuestos activos a concentraciones de 1 a 200

$\mu\text{g/mL}$ por un periodo de 24 h, al término del tiempo se adicionó una solución de MTT y después de 4 horas se solubilizaron con DMSO los cristales de formazan producidos por las células viables. La cuantificación se realizó por espectrofotometría.

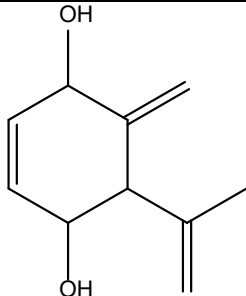
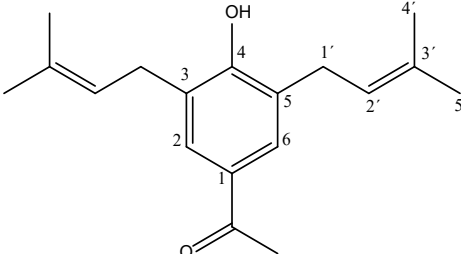
La cuantificación de mediadores pro-inflamatorios como óxido nítrico (NO), factor de necrosis tumoral (TNF- α), interleucinas (IL-1 β , IL-6) y anti-inflamatorio como IL-10 se determinó en macrófagos estimulados con lipopolisacárido (LPS): En una placa de 24 pozos se sembraron 1×10^6 macrófagos/pozo, estos se incubaron durante 24 h, posteriormente se formaron los grupos de evaluación: Basal (sin tratamiento); Positivo (Indometacina $47.8 \mu\text{M}$ $\mu\text{g/mL}$ + LPS), Negativo (LPS) y Prueba (Piquerol o DHAP + LPS). Se incubaron por 24h y se cuantificó los niveles de IL-1 β , IL-6 y TNF- α . Por la técnica de ELISA con Kits comerciales.

RESULTADOS:

A partir del extracto de diclorometano de *P. trinervia* se aisló un monoterpeno denominado Piquerol (Tabla 1). Por otro lado, también del extracto de diclorometano de *A. pazcuarensis* se aisló el compuesto 3,5-diprenil-4-hidroxi-acetofenona (DHAP) Tabla 1.

Los resultados de la evaluación antiinflamatoria en el modelo de edema auricular en ratón inducido por TPA para ambos compuestos se resume en la tabla 1.

Tabla 1. Estructuras químicas del Piquerol y 3,5-diprenil-4-hidroxi-acetofenona. Resultados del ensayo de edema auricular en ratón inducido por TPA

	Tratamiento	Dosis (mg/oreja)	Diferencia de pesos (mg)	% de inhibición de la inflamación
	Piquerol			
	Vehículo	0	11.45 \pm 0.5**	0.0
	Indometacina	2	4.41 \pm 0.5*	61.44 \pm 4.2
	Piquerol	2	4.36 \pm 0.6*	66.19 \pm 5.3
	DHAP			
	Vehículo	0	10.71 \pm 0.37*	0
	Indometacina	2	4.19 \pm 0.28*	60.99 \pm 2.63
	DHAP	2	3.71 \pm 0.55*	65.34 \pm 5.14
media \pm EE (n = 8). * $p \leq 0.05$, diferencia estadísticamente significativa comparado con vehículo y ** $p \leq 0.05$ diferencia estadísticamente significativa comparado con Indometacina				

En la figura 1 se presentan los resultados de la cuantificación de citocinas involucradas en la inflamación producidas por macrófagos estimulados con LPS, tratados con Piquerol

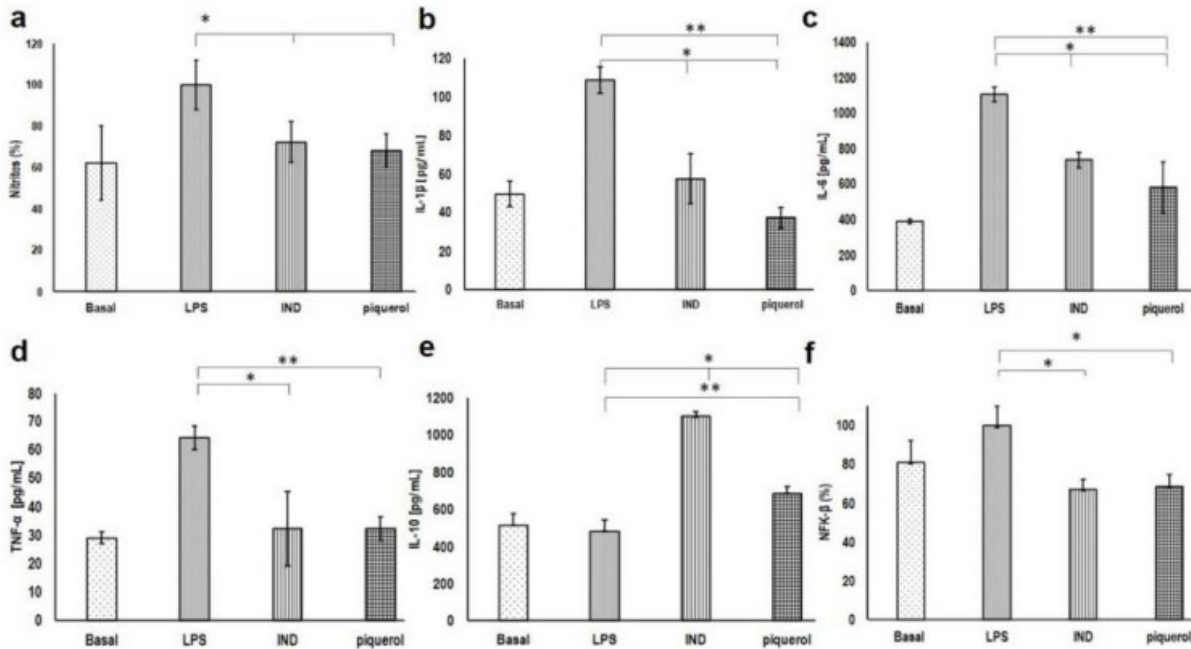


Figura 1.- Actividad de Piquerol e indometacina (IND) a 47.8 μ M, respectivamente, en macrófagos J774A.1 estimulados con LPS sobre la producción de (a) NO; (b) IL-1; (c) IL-6; (d) TNF- α (e) IL-10. El gráfico representa la desviación estándar media de tres experimentos independientes (n = 6). ** p < 0.01 y * p < 0.05 diferencia estadísticamente significativa comparadas (a-d,f) con LPS e IL-10 (e) se comparó el grupo Piquerol con el grupo IND.

En la figura 2 se muestran las concentraciones de mediadores inflamatorios producidas por macrófagos estimulados con LPS y tratados con DHAP.

Las gráficas 1 y 2 muestran el efecto antiinflamatorio de Piquerol y 3,5-diprenil-4-hidroxiacetofenona (DHAP), inhibieron la producción de los mediadores inflamatorios NO, TNF- α , IL-1 y IL-6, además promovieron el aumento de la citocina antiinflamatoria de IL-10, en macrófagos estimulados con LPS.^[4] Es importante mencionar que estos mediadores son dianas para el tratamiento de la inflamación. La actividad antiinflamatoria demostrada de Piquerol apoya el uso de este compuesto como alternativa para la resolución de inflamación asociada a diferentes enfermedades crónico-degenerativas, particularmente tomando en cuenta que ambos compuestos tienen baja toxicidad en macrófagos J774A.1.

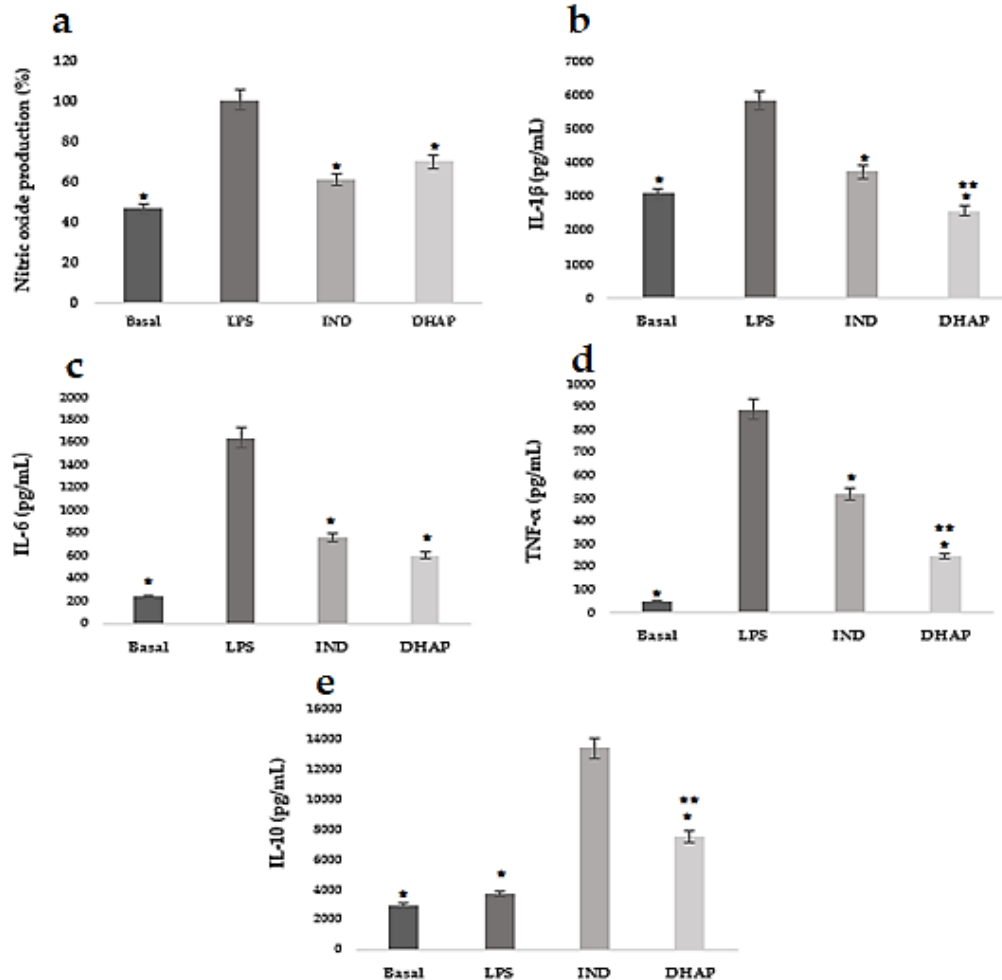


Figura 2.- Actividad de DHAP e indometacina (IND) a concentraciones de 47.79 μM respectivamente en macrófagos J774A.1 estimulados con LPS sobre la producción de NO(a); IL-1 β (b); IL-6 (c); TNF- α (d) e IL-10 (e). El gráfico representa la media \pm desviación estándar.

CONCLUSIONES:

El monoterpeno denominado Piquerol y el compuesto 3,5-diprenil-4-hidroxi-acetofenona (DHAP) redujeron la inflamación en modelo *in vivo*, así como también promovieron la disminución de mediadores inflamatorios. Estas observaciones indican que estos compuestos podrían ser una alternativa para el tratamiento de enfermedades inflamatorias que aqueja la población.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Iwalewa, E.O.; McGaw, L.J.; Naidoo, V.; Eloff, J.N. *Afr. J. Biotechnol.* 2007, 6, 2868–2885.
2. Young, L.M.; Kheifets, J.B.; Ballaron, S.J.; Young, J.M. *Agents Actions* 1989, 26, 335–341.
3. Mosmann, J. *Immunol. Methods* 1983, 65, 55–63.
4. Ca, Y.; Xue, F.; Quan, C.; Qu, M.; Liu, N.; Zhang, Y.; Fleming, C.; Hu, X.; Zhang, H.; Weichselbaum, R.; et al. *J. Investig. Dermatol.* 2019, 139, 146–156.

SÍNTESIS BIOCATALÍTICA DE MANDELONITRILO ÓPTICAMENTE ACTIVO

*R. Marlen Martínez Casares, Liliana Hernández Vázquez, Julia Cassani Hernández, Héctor Luna Contla, Aida Solís Oba**

Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco, Departamento de Sistemas Biológicos

**asolis@correo.xoc.uam.mx*

Palabras clave: *biocatálisis, actividad óptica, hidroxinitrilo liasa, mandelonitrilo, P. sapota*

INTRODUCCIÓN

La actividad biológica de los compuestos ópticamente activos puede ser diferente para cada uno de los enantiómeros, uno puede ser activo y el otro inactivo, pueden tener diferente actividad biológica, o uno de ellos puede tener actividad terapéutica mientras que el otro puede ser tóxico, teratogénico o cancerígeno. Por lo anterior, es indispensable investigar completamente la actividad biológica de cada uno de los enantiómeros de compuestos ópticamente activos, antes de que se puedan administrar, entonces cada enantiómero se debe obtener de manera enantiopura.¹ Existen diversos métodos para obtener compuestos enantiopuros, entre ellos se encuentra la biocatálisis, la cual implica el uso de enzimas de origen microbiano, vegetal o animal para catalizar reacciones de manera enantioselectiva.

Las hidroxinitrilo liasas (HNL) son enzimas que catalizan la adición enantioselectiva de HCN a aldehídos o cetonas para producir cianohidrinas ópticamente activas, las cuales son bloques sintéticos importantes para la obtención de sustancias con actividad biológica, como fármacos y agroquímicos (Figura 1).² Las HNL se han encontrado en las semillas de diversas plantas, principalmente en el género *Prunus*, por ejemplo, las (*R*)-HNL se han obtenido de las semillas de almendra, cereza, durazno y capulín.³ La semilla de *Pouteria sapota* es una de las pocas fuentes de (*R*)-HNL que cataliza la adición enantioselectiva de HCN a benzaldehídos *orto*-sustituidos para dar los correspondientes (*R*)-mandelonitrilos *orto*-sustituidos, con alta conversión y exceso enantiomérico (*ee*).⁴

Entre las desventajas del uso de enzimas es que pueden ser desactivadas por la concentración de reactivos, disolvente, temperatura, además de que no son reutilizables. Al inmovilizar la enzima en un soporte adecuado, se logra proteger, recuperar y reutilizar la enzima, otras ventajas al inmovilizar es que el producto se puede separar fácilmente de la mezcla de reacción, se ha reportado que la actividad y la selectividad pueden mejorar. Se han reportado diferentes tipos de inmovilización, dentro de las más utilizadas encontramos la inmovilización no covalente sobre celita, es un procedimiento de inmovilización simple y de bajo costo.⁵⁻⁷ Se han reportado varios ejemplos de inmovilización de HNL sobre celita con buenos resultados,⁶⁻⁷ en donde han demostrado que las enzimas son estables y se pueden utilizar repetidamente, observándose buenas conversiones y enantioselectividad. Por lo anterior, en esta investigación se estudió el efecto de la inmovilización de HNL presente en las semillas de *P. sapota* (PsHNL) sobre su actividad enzimática para la adición de HCN a

resultante se secó, tamizó y se utilizó como fuente cruda de (*R*)-PsHNL, se almacenó a 4°C hasta su uso.

HNL semipurificada [(*R*)-PsHNL-sp]: La harina desengrasada (3 g) se suspendió en 45 mL de agua desionizada y se molió con un ultraturrax por 10 min a 0°C, luego se centrifugó a 4000 rpm por 15 min a 5°C, se recuperaron 35 mL de extracto. El extracto se usó como fuente de (*R*)-PsHN-im para inmovilizar sobre celita, o se liofilizó (-47°C y 0,242 mbar) y el sólido resultante se usó como HNL semipurificada

Inmovilización de la HNL semipurificada [(*R*)-PsHN-im]: la celita (3 g) se mezcló con acetona (35 mL), y se agitó magnéticamente a 0 °C, luego se adicionó gota a gota el extracto de la harina desengrasada de *P. sapota* (35 mL, a 0°C), la mezcla se agitó 2 h a 0 °C, se filtró y el sólido se secó en la campana de extracción.

Preparación biocatalítica de (*R*)-mandelonitrilo: El HCN de una solución amortiguadora de KCN/ácido cítrico (0.55 mL, 1N, pH 5.0, 1.5 eq.) se extrajo con diisopropil éter (DIPE, 2 × 2 mL). A la solución de HCN/DIPE se le añadió 5 % (v/v) de la solución amortiguadora KCN/citratos y la fuente correspondiente de (*R*)-PsHNL, la mezcla se agitó durante 10 min a 5°C, posteriormente se adicionó el benzaldehído (0.35 mmol), la mezcla de reacción se agitó a 5°C, 24h. Se decantó el DIPE, se lavó con agua, se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó a sequedad. Se determinó el % de ee por HPLC quiral y el % de conversión por CG del acetato del (*R*)-mandelonitrilo. Las reacciones se realizaron por triplicado.

Reciclado de PsHNL inmovilizada: La fuente de (*R*)-PsHNL utilizada en el experimento anterior se lavó con DIPE saturado con solución amortiguadora de citratos, y se reutilizó de inmediato o se almacenó a 5°C. La fuente de (*R*)-PsHNL recuperada se reutilizó para la preparación biocatalítica de (*R*)-mandelonitrilo, como se indica en el párrafo anterior. Los experimentos se realizaron por triplicado.

Formación de acetatos de cianohidrinas para determinar el % de conversión por GC: El (*R*)-mandelonitrilo obtenido (3.25 mg) se mezcló con 0.50 mL de diclorometano, 10 µL de anhídrido acético y 10 µL de trietilamina, se agitó 24 h a temperatura ambiente, se lavó con agua, se secó con Na₂SO₄ y se analizó por GC.

Análisis estadístico: Se utilizó el análisis de varianza unidireccional (ANOVA) seguido de HDS de Tukey-Kramer Test, $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo utilizando el software JMP versión 13 (SAS Institute Inc., North Caroline, EE. UU.). Los resultados se expresaron como media ± desviación estándar.

RESULTADOS

La HNL presente en la harina desengrasada de la semilla de mamey se encuentra inmovilizada en un soporte natural (PsHNL). Dicha enzima es soluble en agua, por lo que se extrajo con agua y luego esta se eliminó por liofilización, quedando un sólido que contiene a

la HNL semipurificada (PsHNLsp), el rendimiento de la extracción fue del 33%. La enzima semipurificada se precipitó con acetona a 0°C, para evitar la desnaturalización de las proteínas, y se adsorbió sobre celita, quedando la HNL inmovilizada (PsHNLim). Estas tres fuentes enzima se utilizaron en ocho ocasiones para catalizar la adición de HCN a benzaldehído, los resultados de la conversión y el exceso enantiomérico de (*R*)-mandelonitrilo se muestran en la **Figura 2**.

Uno de los problemas encontrados en la adición de HCN a carbonilos en presencia de una HNL, es la adición química que disminuye el exceso enantiomérico de la cianohidrina resultante. Esta última reacción se puede minimizar llevando a cabo la reacción en un disolvente orgánico inmiscible en agua y a baja temperatura, con lo que se favorece la reacción enzimática y por lo tanto se favorece la formación de uno solo de los enantiómeros. En esta investigación la reacción biocatalítica se llevó a cabo en DIPE, lo que favoreció la recuperación de la enzima en los tres sistemas estudiados, ya que al estar adherida a al sustrato sólido en el que se encontraba inmovilizada, se evitó la pérdida de la enzima, debido a que es insoluble en el DIPE.

En la **Figura 2A** se observa que tanto la HNL presente en la harina desengrasada, como la inmovilizada sobre celita no perdieron su actividad biocatalítica, por el contrario, se observa que la conversión del benzaldehído aumentó con el número de ciclos. El comportamiento de la HNL semipurificada tuvo un comportamiento variable en los diferentes ciclos, y en general la conversión fue menor que con las otras fuentes de PsHNL.

La enzima que contiene la *P. sapota* es una (*R*)-HNL, ya que el enantiómero preferido por la adición de CN al carbonilo es el de configuración “*R*”. En la **Figura 2B** se observa que los excesos enantioméricos, en los primeros tres ciclos, fueron >98% es decir se obtuvo el 99% de (*R*)-mandelonitrilo con las tres fuentes de HNL obtenidas de la semilla de *P. sapota*. En los siguientes 5 ciclos disminuyó ligeramente la enantioselectividad utilizando la harina desengrasada, pero el ee se mantuvo entre 94.1 y 98.0% de (*R*)-mandelonitrilo. En el caso de la enzima inmovilizada sobre celita, PsHNLim, en los ciclos 4 al 8 el ee estuvo entre 95.3-98.7%. Para la enzima semipurificada, se observa una clara disminución en la enantioselectividad de la enzima ya que en el ciclo 4 el ee fue de 95.6 %, disminuyendo su actividad biocatalítica en cada ciclo, en el ciclo 8 disminuyó hasta 80.4%.

Al realizar el análisis estadístico para evaluar el ee de las diferentes fuentes de PsHNL, se concluye que no existe diferencia estadística entre PsHNL y PsHNLim, sin embargo, el utilizar la enzima semipurificada PsHNLsp a partir del ciclo 7 hay una diferencia estadísticamente significativa con las demás fuentes y ciclos.

Para el % de conversión no se observa una diferencia significativa entre PsHNL y PsHNLim, sin embargo, para PsHNLsp a partir del ciclo 5 existe una diferencia estadísticamente significativa con las demás fuentes y ciclos.

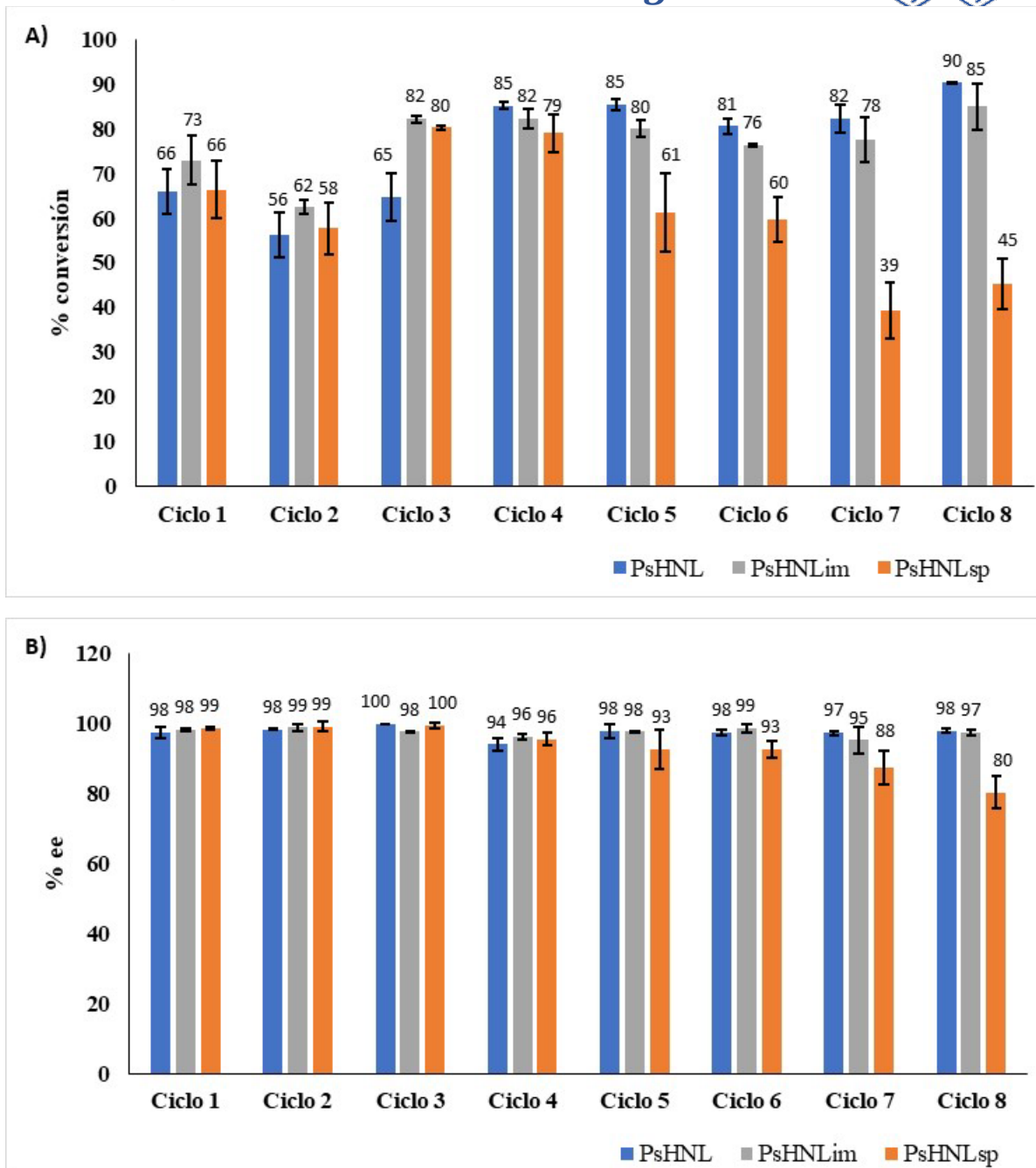


Figura 2. A) % de conversión y B) % de exceso eantiomérico (ee) del (*R*)-mandelonitrilo obtenido por adición de HCN a benzaldehído después de 8 ciclos de reuso de PsHNL, PsHNLsp y PsHNLim.

CONCLUSIONES

Con estos resultados se puede concluir que la HNL es una enzima robusta, que no pierde su actividad biocatalítica si se lleva a cabo la reacción en medio orgánico, a baja temperatura y

en un soporte que le ayude a mantener su estabilidad catalítica. Con PSHNL y PsHNLim se logró reciclar 8 veces sin que observara una pérdida en la actividad y enantioselectividad de la enzima, ya que las conversiones y la pureza óptica se mantuvieron prácticamente constantes. En el caso de PsHNLsp también se obtuvieron excelentes resultados en los primeros 3 ciclos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Calcaterra, A.; D'Acquarica, I. *J. Pharm. Biom. Anal.* **2018**, 147, 323-340.
2. Dadashipour, M.; Asano, Y. *ACS Catal.* **2011**, 1 (9), 1121-1149.
3. Solís, A.; Luna, H.; Manjarrez, N.; Pérez, H. I. *Tetrahedron*, **2004**, 60 (46), 10427–10431.
4. Martínez-Casares, R. M.; Pérez, H.; Manjarrez, N.; Solís-Oba, M.; Ortega, L.; Solís, A. *Ind. Crops Prod.* **2020**, 153, 112606.
5. Cesarini, S.; Infanzón, B.; Pastor, F. I. J.; Diaz, P. *BMC Biotechnol.* **2014**, 14 (1), 27.
6. Aggarwal, S.; Chakravarty, A.; Ikram, S. A. *Int. J. Biol. Macromol.* **2021**, 167, 962–986.
7. Bracco, P.; Torrelo, G.; Noordam, S.; de Jong, G.; Hanefeld, U. *Catalysts* **2018**, 8 (7), 287.

SÍNTESIS Y ACTIVIDAD ANTIPROTOZOARIA DE DERIVADOS DE INDAZOL

Jaime Pérez Villanueva^{1,*}, Lilián Yépez Mulia², Francisco Cortés Benítez¹, Juan Francisco Palacios Espinosa¹, Karen Rodríguez Villar¹, Olivia Soria Arteché¹

¹Departamento de Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (UAM-X), Ciudad de México 04960, México.

²Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, Unidad Médica de Alta Especialidad-Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México 06720, México.

*Autor de correspondencia: Jaime Pérez Villanueva

Correo: jpvillanueva@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Antiprotozoarios, Indazol, Síntesis de Cadogan.

INTRODUCCIÓN

El indazol es un núcleo heterocíclico que se encuentra en un gran número de compuestos con actividad biológica.¹ Entre los fármacos de uso clínico que lo contienen se encuentran el antiemético granisetron, los antiinflamatorios no esteroideos bencidamina y bendazac, los anticancerosos pazopanib, axitinib, niraparib y entrectinib. De estos, niraparib y entrectinib fueron aprobados recientemente en 2017 y 2019 respectivamente.^{2,3}

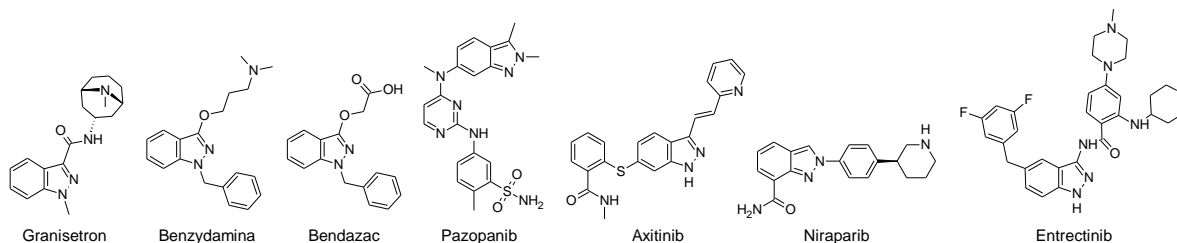


Figura 1. Fármacos aprobados que contienen el núcleo de indazol.

Recientemente se reportó que el indazol posee actividad antiprotozoaria,⁴ por lo que resulta de nuestro interés el sintetizar derivados con el fin de contribuir en la búsqueda de agentes antiprotozoarios. Una de las metodologías más usadas en la síntesis de indazoles es la descrita por Cadogan, la cual consiste en un proceso de dos pasos que implica la formación de una base de Schiff, seguida de una ciclación a través de la formación de un nitreno en presencia de fosfito de trietilo.⁵ En el presente trabajo se implementó una metodología *one-pot* asistida por ultrasonido para llevar a cabo la síntesis de Cadogan empleando diversas anilinas sustituidas. Posteriormente, los compuestos fueron evaluados contra los protozoarios *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis* y *Trichomonas vaginalis*.

OBJETIVO

Desarrollar una metodología *one-pot* para la síntesis de indazoles y evaluar los compuestos como agentes antiprotozoarios.

MATERIALES Y MÉTODOS

Síntesis *one-pot* asistida por ultrasonido: En un tubo Schlenk de 50 ml se agregó 2-nitrobenzaldehído (1,654 mmol) y anilina sustituida (1,654 mmol). La mezcla de reacción se sometió a ultrasonido durante dos horas a 40 °C. Posteriormente, se añadió fosfito de trietilo (5 mmol) y se calentó a 150 °C en atmósfera de nitrógeno durante dos horas. El exceso de fosfito se oxidó con 20 ml de solución de H₂O₂ al 5%. El producto se extrajo con acetato de etilo y se concentró en el rotavapor. El residuo se purificó usando cromatografía en columna.

Evaluación de la actividad antiprotozoaria: Se incubaron 5 x 10⁴ trofozoítos de *G. intestinalis* (IMSS:0981:1) o *T. vaginalis* (GT3), o 6 x 10³ trofozoítos de *E. histolytica* (HM1-IMSS) durante 48 horas a 37 °C con diferentes concentraciones del compuesto a ensayar en DMSO. Se incluyeron albendazol y metronidazol como controles positivos. Al final del período de tratamiento, las células se lavaron y se subcultivaron durante otras 48 horas en medio nuevo sin fármaco. Finalmente, se contaron los trofozoítos con un hemocitómetro y se calculó mediante análisis Probit la concentración inhibitoria al 50% (IC₅₀).

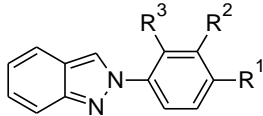
RESULTADOS

Se obtuvieron 16 compuestos empleando la Síntesis de Cadogan *one-pot* asistida por ultrasonido. Los resultados muestran que el método implementado mejora los rendimientos comparados con reportes previos y hace más fácil y eficiente el tratamiento de la reacción, Tabla 1. Es importante mencionar que algunos derivados que no se pudieron obtener por el método convencional, fue posible sintetizarlos por esta metodología. Como complemento a estas moléculas, se derivatizaron algunos compuestos por medio de una reacción de hidrólisis con el fin de obtener más información para estudiar las relaciones estructura-actividad. Los resultados de la evaluación biológica muestran que los grupos electroattractores mejoran la actividad biológica contra todos los parásitos evaluados, Tabla 2.

Tabla 1. Resultados de la síntesis de Cadogan *one-pot* asistida por ultrasonido

Compuesto	R	Método <i>one-pot</i>	Método convencional
1	H	92	60
2	4-Cl	62	52
3	4-OCH ₃	57	52
4	4-COOCH ₃	39	38
5	4-F	71	50
6	4-CF ₃	43	6
9	3-Cl	53	–
10	3-OCH ₃	45	–
11	3-COOCH ₃	51	–
12	3-F	51	–
13	3-CF ₃	46	–
16	2-Cl	55	–
17	2-OCH ₃	69	–
18a	2-CN	32 ¹	–
19	2-F	54	–
20	2-CF ₃	26	–

Tabla 2. Actividad antiprotozoaria de los derivados sintetizados (IC₅₀ [nM] ± σ)



Compuesto	R ¹	R ²	R ³	<i>E. histolytica</i>	<i>G. Intestinalis</i>	<i>T. vaginalis</i>
1	H	H	H	80 ± 4	113 ± 22	118 ± 22
2	Cl	H	H	42 ± 3	63 ± 3	107 ± 3
3	OCH ₃	H	H	154 ± 16	205 ± 6	372 ± 16
4	COOCH ₃	H	H	22 ± 3	63 ± 6	107 ± 6
5	F	H	H	75 ± 7	71 ± 7	118 ± 20
6	CF ₃	H	H	53 ± 0	34 ± 5	84 ± 16
7	OH	H	H	74 ± 10	119 ± 7	157 ± 14
8	COOH	H	H	97 ± 6	193 ± 12	327 ± 18
9	H	Cl	H	70 ± 12	83 ± 12	101 ± 6
10	H	OCH ₃	H	78 ± 10	56 ± 10	120 ± 19
11	H	COOCH ₃	H	36 ± 0	54 ± 3	69 ± 8
12	H	F	H	97 ± 10	87 ± 3	92 ± 10
13	H	CF ₃	H	61 ± 5	50 ± 5	69 ± 5
14	H	OH	H	102 ± 3	105 ± 0	162 ± 0
15	H	COOH	H	74 ± 9	53 ± 9	65 ± 9
16	H	H	Cl	88 ± 6	31 ± 6	66 ± 12
17	H	H	OCH ₃	96 ± 3	83 ± 3	183 ± 6
18	H	H	COOCH ₃	50 ± 3	32 ± 6	109 ± 8
19	H	H	F	92 ± 10	71 ± 7	108 ± 7
20	H	H	CF ₃	31 ± 11	27 ± 11	128 ± 14
21	H	H	OH	145 ± 10	74 ± 3	112 ± 10
22	H	H	COOH	74 ± 3	23 ± 9	67 ± 6
Metronidazol				380 ± 146	1226 ± 125	236 ± 16
Albendazol				56533 ± 18845	37 ± 3	1591 ± 11

CONCLUSIONES

Se logró obtener una metodología eficiente para la síntesis de derivados indazólicos en una reacción *one-pot*, la evaluación biológica muestra que estos derivados tienen buena actividad antiprotozoaria, especialmente si están sustituidos con grupos electroattractores sobre el fenilo de la posición 2 del indazol. Esta metodología de síntesis ha sido aplicada en nuestro grupo de investigación para la obtención de una colección extensa de compuestos con diversos efectos biológicos como agentes citotóxicos, candididas y antiinflamatorios.

BIBLIOGRAFÍA

1. Thangadurai, A.; Minu, M.; Wakode, S.; Agrawal, S.; Narasimhan, B. *Med. Chem. Res.* **2012**, *21*, 1509–1523.
2. Scott, L.J. *Drugs* **2017**, *77*, 1029–1034.
3. Al-Salama, Z.T.; Keam, S.J. *Drugs* **2019**, *79*, 1477–1483.
4. López-Vallejo, F.; Castillo, R.; Yépez-Mulia, L.; Medina-Franco, J.L. *J. Biomol. Screen.* **2011**, *16*, 862–868.
5. Cadogan, J.; Mackie, R. *Org. Synth.* **1968**, *48*, 113.

DISEÑO, SÍNTESIS Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE PORFIRINAS Y MOFS

Carlos A. Méndez-Cuesta[†], Miguel Martell-Mendoza[†], Lucina Arias-García[†], Cuauhtémoc Pérez-González^{†*}.

[†]Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, Calzada del Hueso 1100, Ciudad de México 04960, México

* Autor de correspondencia. Correo: cperezg@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Porfirinas, síntesis, modelado, cáncer.

INTRODUCCIÓN:

Las porfirinas y sus derivados tienen un papel importante en los sistemas biológicos, que van desde la fotosíntesis, como medio de transporte, almacenamiento de oxígeno y la transferencia de electrones, por lo que han sido estudiadas ampliamente para su aplicación como sensibilizadores en la terapia fotodinámica de los tumores¹. Las porfirinas son moléculas orgánicas que poseen una estructura general de macrocíclicos aromáticos, las cuales constan de cuatro unidades de pirrol llamadas tetrapirrólico y están conectadas a través de enlaces metínicos. En su estructura, los átomos de carbono en las posiciones 5, 10, 15 y 20 que forman los enlaces de metino o puentes metino, se conocen como posiciones meso-carbono; aquellos que pertenecen a las posiciones 2, 3, 7, 8, 12, 13, 17 y 18 se consideran β -pirrólicos². La porfirina y sus derivados han sido modificadas en la posición meso para aplicaciones biomédicas que involucran el fotodiagnóstico y terapia del cáncer, cuyo uso más dominante es en terapia fotodinámica (TFD)³, la cual ha surgido como un tratamiento prometedor y no invasivo para diversos tipos de cáncer. Esta técnica implica la generación controlada de agentes citotóxicos de vida corta dentro de una célula mediante la irradiación con luz visible de longitud de onda apropiada de un fotosensibilizador o profármaco⁴. Las principales ventajas como fotosensibilizador de la porfirina incluyen: estabilidad aromática, absorción eficiente de la luz roja visible, alto rendimiento de oxígeno activo, larga vida útil del estado triplete y mínima toxicidad oscura⁵.

La respuesta inflamatoria es un mecanismo de defensa contra la acción de agentes físicos, químicos o biológicos, y responsables para la liberación de mediadores que desencadenan la respuesta inmune en el sitio de la inflamación, cuyo principal objetivo es ayudar al cuerpo a sanar, sin embargo, cuando este proceso se descontrola, podría conducir a problemas graves de salud. La mayoría de las enfermedades inflamatorias son multifactoriales y algunos de ellos son de tipo crónico-degenerativo^{6,7}. Se tienen reportes de que los compuestos relacionados con el grupo hemo, como la hemoglobina, ejercen efectos antiinflamatorios y antioxidantes⁸. Por lo tanto, las porfirinas son compuestos interesantes para ser probados como agentes antiinflamatorios debido a su analogía estructural con dicho grupo. Además, se tiene reportes de otras actividades farmacológicas interesantes, tales como antibacterianas, y antiparasitarias^{9,10}.

El QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship, por sus siglas en inglés) es un método computacional que correlaciona las propiedades estructurales y las actividades

biológicas de las moléculas, para obtener un modelo estadístico confiable para la predicción de las actividades de nuevas entidades químicas¹¹. En este trabajo, se empleó como herramienta para analizarlas las relaciones estructura-actividad de los derivados de porfirinas para diseñar nuevas moléculas con una mayor actividad biológica, particularmente actividad cancerígena y bactericida.

OBJETIVO (S):

- Preparar diferentes series de porfirinas y evaluar su actividad farmacológica.
- Caracterizar la estructura de los compuestos sintetizados por RMN ¹H y ¹³C
- Analizar la información mediante el programa informático Build QSAR para construir modelos teóricos QSAR, tanto para la actividad citotóxica como para la actividad antibacteriana.
- Realizar el acoplamiento molecular sobre proteínas involucradas en el proceso de inflamación para estudiar las interacciones proteína-ligando
- Proponer nuevas moléculas con las características más importantes predichas por los modelos obtenidos para predecir su actividad biológica.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Para la preparación de las diferentes porfirinas que se empleó la metodología diseñada por Adler-Longo^{12,13}. Todas las estructuras de los compuestos se determinaron mediante RMN de protón y carbono.

Para los estudios QSAR, se obtuvieron los descriptores moleculares de la plataforma web gratuita ChemDes, se empleó el programa informático Build QSAR para construir y analizar modelos QSAR que contengan de uno hasta seis descriptores, identificando los descriptores significativos y no significativos dentro del modelo, comparando la división del coeficiente de variación entre el error estándar contra el valor de *t*-student de cada descriptor. Así mismo, se analizó la matriz de correlación de cada modelo para confirmar que los descriptores no son colineales. Se realizó una evaluación del modelo por medio de la validación interna cruzada con el método de Leave-One-Out con una $Q^2 > 0.5$ y que la diferencia de $R^2 - Q^2$ sea ≤ 0.3 . Además, se realizó una validación externa usando un conjunto de entrenamiento y un conjunto de prueba, considerando: R^2_{adj} más cercano a 1 y prueba *F*, para establecer que el modelo es predictivo.

RESULTADOS:

Las moléculas sintetizadas se muestran en la **Figura 1**.

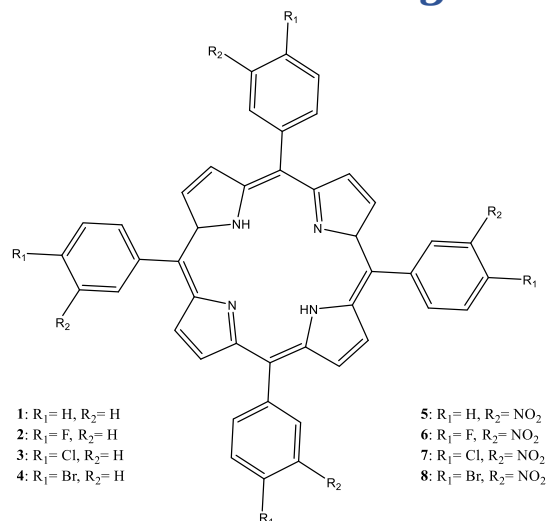


Figura 1. Porphirinas sintetizadas y evaluadas.

Los compuestos sintetizados demostraron, en estudios previos, buenas actividades biológicas, disminuyendo la inflamación aguda y crónica con un porcentaje máximo de 71%, una DL₅₀ >7.3 mmol/kg y reduce de manera significativa los marcadores TNF- α , IL-6 e IL-1 β ^{14,15}.

Estas moléculas, así como las obtenidas en las bases de datos previamente descritas, se emplearon para generar diversos modelos QSAR. Los mejores modelos obtenidos por QSAR fueron para la línea celular HeLa y *E. coli*, los cuales se describen a continuación:

Para la línea celular HeLa con 20 compuestos que corresponden al conjunto de entrenamiento y 8 compuestos para el conjunto de prueba, siendo el 70% y 30% respectivamente. Se obtuvo la ecuación:

$$Y1 = - 0.4761 (\pm 0.2890) X943 + 1.4124 (\pm 0.5471) X1096 - 0.0158 (\pm 0.0058) X2 + 5.2739 (\pm 0.7872)$$

Mientras que los valores estadísticos obtenidos fueron:

R	R ²	R ^{2adj}	s	F_QSAR	Q ²	R ² - Q ²
0.895	0.8018	0.7646	0.37	21.57	0.651	0.1508

Para *E. coli*, las moléculas se agruparon aleatoriamente en dos subgrupos: conjunto de entrenamiento y un conjunto de prueba, en porciones de 70% y 30%, respectivamente del total de la muestra. El conjunto de entrenamiento estuvo formado por 28 compuestos y el conjunto de prueba lo conformaron 12 compuestos.

$$Y1 = + 0.5150 (\pm 0.2241) X576 - 0.2144 (\pm 0.0768) X1338 - 1.8925 (\pm 0.4689) X315 - 0.3938 (\pm 0.0648) X806 - 0.0270 (\pm 0.0072) X730 + 0.0026 (\pm 0.0004) X368 + 5.0329 (\pm 0.5594)$$

Mientras que los valores estadísticos obtenidos fueron:

R	R ²	R ² _{adj}	s	F_QSAR	Q ²	R ² - Q ²
0.983	0.9666	0.9571	0.163	101.302	0.951	0.0156

CONCLUSIONES:

Debido a su baja toxicidad y buen efecto anti-nociceptivo y antiinflamatorio, las porfirinas podrían ser una buena alternativa para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y para el tratamiento de dolor como consecuencia de otros padecimientos. Tanto las porfirinas halogenadas como nitradas son buenos candidatos a continuar con estudios complementarios, así como probar su eficacia sobre diversas líneas celulares.

Se logró desarrollar y analizar modelos QSAR de la actividad de porfirinas sobre HeLa y *E. coli*, de manera que cumplen con los criterios mínimos de calidad estadística establecida en la literatura y con capacidad predictiva para diseñar nuevos derivados de la tetrafenilporfirina.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Jensen, T.; Graca, M.; Vicente, H.; et al. (2010). *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.* **2010**. *100*, 100-111.
2. Souza, D.; Gomez, A.; Santos, R.; et al. *Mini Rev Org Chem.* **2013**. *10*, 97-102.
3. Ormond, A., & Freeman, H.; *Dyes Pigm.* **2013**. *96*, 440-448.
4. Ajesh, T.; Saneesh, B.; Asha, N.; et al. *J. Med. Chem.* **2012**. *55*, 5110-5120.
5. Lin, Y.; Zhou, T.; Xie, Y.; *J. Enzyme. Inhib. Med. Chem.* **2020**. *35*(1), 1080-1099.
6. Franke, L. C.; Ament, A. J.; van de Enden, J. B.; Williams, M. H. N. *Engl. J. Med.* **1991**. *324*, 585.
7. Boursinos, L. A.; Karachalios, T.; Poultsides, L.; Malizos, K. N. *J. Musculoskelet. Neuronal Interact.* **2009**. *9*, 44.
8. Jelena, A.; Mirjana, M.; Desanka, B.; Svetlana, I. M.; Aleksandra, U.; Goran, P.; Ilijana, G. *J. Physiol. Biochem.* **2013**. *69*, 45
9. Bozja, J.; Yi, K.; Shafer, W. M.; Stojiljkovic, I. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **2004**. *24*, 578
10. Abada, Z.; Cojean, S.; Pomel, S.; Ferrie, L.; Akagah, B.; Lormier, A. T.; Loiseau, P. M.; Figadere, B. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**. *67*, 158.
11. Verma, J.; Khedkar, V.; Coutinho, E. *Curr. Top. Med. Chem.* **2010**. *10*, 95-115.
12. Adler, A. D.; Longo, F. R.; Finarelli, J. D.; Goldmacher, J.; Assour, J.; Korsakoff, L. *J. Org. Chem.* **1967**. *32*, 476.
13. Adler, A. D.; Sklar, L.; Longo, F. R.; Finarelli, J. D.; Finarelli, M. G. *J. Heterocycl. Chem.* **1968**. *5*, 669.
14. Zapata-Morales, J.R.; Pérez-González, C.; Alonso-Castro¹, A.J.; Martell-Mendoza, M.; Hernández-Munive, A.; Pérez-Gutiérrez, S. *Med. Chem Res.* **2018**. *27*, 1782-1791.
15. Alonso-Castro, A.J.; Zapata-Morales, J.R.; Hernández-Munive, A.; Campos-Xolalpa, N.; Pérez-Gutiérrez, S.; Pérez-González, C. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**. *23*, 2529-2537.

DISEÑO Y SEMISÍNTESIS DE DERIVADOS DEL ÁCIDO GLICIRRETÍNICO COMO INHIBIDORES DE LA PTP1B Y/O ALFA-GLUCOSIDASA PARA EL TRATAMIENTO DE LA DIABETES TIPO 2 Y OBESIDAD

Juan Francisco Cortés Benítez^{1*}, Martín González Andrade², Jaime Pérez Villanueva¹, Juan Francisco Palacios Espinosa¹, Olivia Soria Arteché¹

¹Laboratorio de síntesis y aislamiento de sustancias bioactivas (N015), Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Xochimilco, CDMX 1100.

²Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX 04360.

*Autor de correspondencia: Dr. Juan Francisco Cortés Benítez

Correo: jcortesb@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: diabetes tipo 2, obesidad, ácido glicirretínico, Proteína Tirosina Fosfatasa 1B, α -glucosidasa.

INTRODUCCIÓN: La proteína tirosina fosfatasa 1B (PTP1B) ha sido conocida por su papel en la regulación negativa de la vía de señalización de la insulina y la leptina.^{1,2} Por otro lado, la α -glucosidasa es una enzima involucrada en la ruptura de enlaces glicosídicos α -1,4 en muchos polisacáridos. La inhibición de la α -glucosidasa disminuye la absorción de glucosa en el tracto digestivo.^{3,4} Por lo tanto, el bloqueo de ambas enzimas es una estrategia atractiva para tratar tanto la diabetes como la obesidad, lo que representa una ventaja sobre las terapias existentes.

Los triterpenos pentacíclicos de tipo oleanano muestran una potente actividad inhibitoria y selectividad contra PTP1B y α -glucosidasa. El ácido glicirretínico (AG), pertenece a este grupo de triterpenos. El AG se encuentra abundantemente (hasta un 24%) como glicirricina en la raíz del regaliz (*Glycyrrhiza glabra* L).^{5,6} La administración oral del AG (100 mg/kg) mejora los niveles de insulina y reduce los niveles de glucosa en sangre comparables a los de glibenclamida en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina.^{7,8} El AG es un inhibidor débil de la PTP1B y la α -glucosidasa.^{9,10} Por lo tanto, creemos que el AG es una estructura atractiva para futuras modificaciones químicas con la finalidad de incrementar su actividad inhibitoria sobre la PTP1B y α -glucosidasa. En este sentido, cabe señalar que la semisíntesis de triterpenos sustituidos por heterociclos nitrogenados fusionados al anillo A ha sido reportada como una estrategia para mejorar la actividad inhibitoria sobre la PTP1B y α -glucosidasa.¹¹ Por lo tanto, esta estrategia podría aplicarse a la AG, pero aún no se ha validada, ya que hasta la fecha no se ha reportado ningún intento de derivados semisintéticos del AG como inhibidores de PTP1B y α -glucosidasa. Por esta razón, este trabajo se centra en aumentar la actividad inhibitoria del AG, el cual, es relativamente fácil y barato de obtener en grandes cantidades a partir de extractos de plantas. Para ello, nosotros sintetizamos dos series de derivados del AG: la serie 1 contiene seis indoles fusionados al anillo A de este triterpeno, mientras que la serie 2 agrupa seis derivados de *N*-fenilpirazol fusionado al anillo A. Ambas series, contienen diferentes grupos (-OCH₃, CH₃, H, F, Cl y CF₃) unidos tanto al anillo bencenoide del indol como al del *N*-fenilpirazol. Adicionalmente, se realizaron estudios de acoplamiento molecular para comprender la afinidad de estos compuestos para ambas enzimas. Los compuestos fueron sintetizados de dos a tres pasos

de reacción a partir del ácido glicirretínico y posteriormente evaluados *in vitro* sobre las enzimas PTP1B y α -glucosidasa.

OBJETIVO: Obtener derivados semisintéticos del ácido glicirretínico con actividad inhibitoria sobre las enzimas PTP1B y α -glucosidasa

MATERIALES Y MÉTODOS:

Acoplamiento molecular (docking): se obtuvo la estructura cristalográfica de las enzimas PTP1B y α -glucosidasa de la base de datos de Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/>) (PDB ID: 1T49 y 6C9Z, respectivamente). Las moléculas de agua se removieron de las macromoléculas con YASARA structure (versión 21.7.43) y su geometría fue minimizada con el campo de fuerza de NOVA. Se adicionaron los átomos de hidrógeno y cargas de Gasteiger-Marsilli. Los ligandos se construyeron con Chem3D BioUltra 16.0 y su energía se minimizó con el método de parametrización semi empírico (PM3), para finalmente adicionar cargas de Gasteiger-Marsilli. El programa usado para el acoplamiento molecular fue Autodock 4.2 y su interfaz gráfica Autodock Tools.¹² El procedimiento general del acoplamiento molecular consistió en la generación de un grid de 0.375 Å, un tamaño de 60X60X60 Å con coordenadas x = 55.74, y = 33.41 y z = 24.47 para PTP1B; mientras que para la α -glucosidasa fue de 60X60X60 Å con coordenadas x = -5.02, y = 4.83 z = 31.84. El proceso del docking se realizó con el algoritmo genético Lamarckiano (LGA), con un número de corridas de 100, un tamaño de población de 150, un número máximo de evaluaciones de 2,500,000 y un número máximo de generaciones de 27,000.

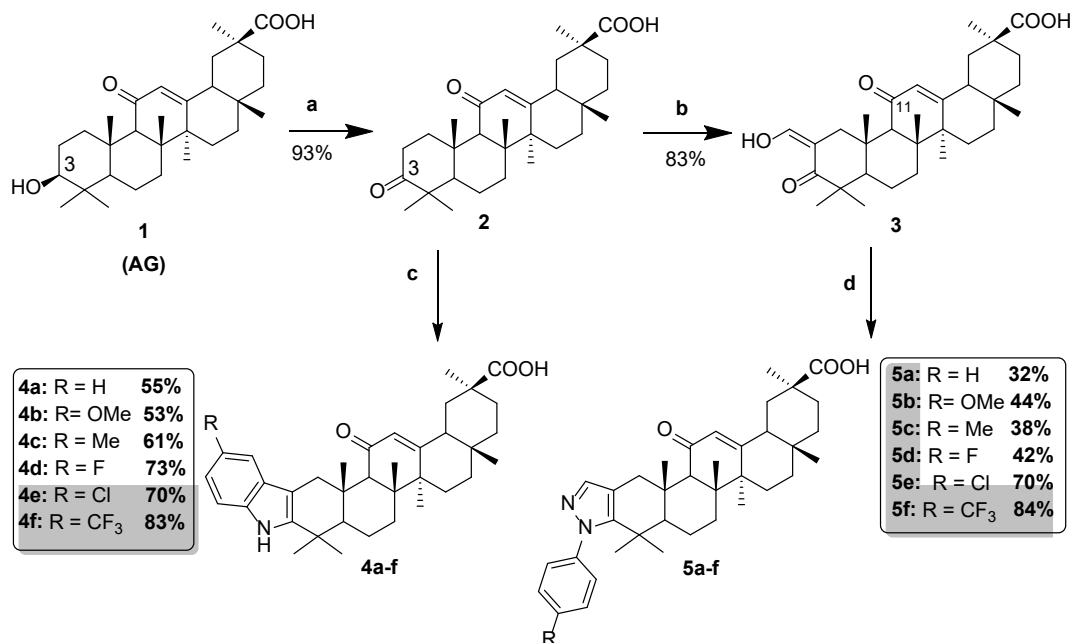
Síntesis orgánica: la síntesis orgánica se realizó de acuerdo con el Esquema 1.

Evaluación *in vitro* sobre PTP1B y α -glucosidasa: para ambas enzimas se empleó el método espectrocolorimétrico descrito previamente. Los compuestos fueron evaluados a diferentes concentraciones para la determinación de la concentración inhibitoria 50 (CI₅₀) y en algunos casos, la constante de inhibición (K_i).^{13,14}

RESULTADOS:

Los rendimientos obtenidos para la obtención de los compuestos **4a-f** y **5a-f**, en donde los rendimientos globales oscilan entre el 17 al 77%. Los resultados del acoplamiento molecular y la evaluación biológica se ilustran en la Tabla 1. En cuanto al acoplamiento molecular, se puede observar que los derivados indólicos, tienen una mayor afinidad por la PTP1B que los derivados *N*-fenilpirazólicos. Sin embargo, estos últimos tienen mayor afinidad por la α -glucosidasa que los derivados indólicos. En cuanto a la evaluación *in vitro* de los compuestos sobre la PTP1B y α -glucosidasa, se observa que todos los compuestos presentan actividad sobre la PTP1B. Asimismo, todos tienen una mayor potencia que el ácido glicirretínico y que algunos controles positivos como el ácido ursólico y la suramina. El inhibidor más potente de las dos series es el compuesto **4f**. Por otro lado, se observa que solo el derivado de *N*-fenilpirazol **5c**, tuvo actividad sobre la enzima α -glucosidasa. Este derivado es 5 veces más

potente que la acarbosa (fármaco de referencia) y es el único inhibidor dual de la PTP1B y α -glucosidasa.



Esquema 1. Reactivos y condiciones: a) CrO₃/H₂SO₄, THF, t.a., 1 h; b) formiato de etilo, NaH, THF, t.a., 2 h; c) clorhidrato de Ar-NHNH₂, AcOH, reflujo, 2 h, d) clorhidrato de Ar-NHNH₂, EtOH, 70°C, 2 h.

Tabla 1: Docking y la evaluación *in vitro* de los derivados del AG (4a-f y 5a-f), ácido ursólico, suramina (inhibidores de PTP1B) y acarbosa (inhibidor de la α -glucosidasa)

Compuesto	R	Acoplamiento molecular		Evaluación <i>in vitro</i>	
		PTP1B	α -glucosidasa	PTP1B	α -glucosidasa
		ΔG (kcal/mol)	ΔG (kcal/mol)	CI ₅₀ (μM \pm S.D)	Ki ($\mu M \pm$ S.D)
4a	H	-9.4	-7.9	6.6 \pm 0.13	SA
4b	OCH ₃	-9.4	-8.0	4.3 \pm 0.26	SA
4c	CH ₃	-9.2	-8.0	8.3 \pm 0.10	SA
4d	F	-8.9	-8.1	5.2 \pm 0.22	SA
4e	Cl	-9.1	-8.4	10.1 \pm 0.2	SA
4f	CF ₃	-8.8	-8.2	2.5 \pm 0.03	SA
5a	H	-9.3	-9.9	5.1 \pm 0.56	SA
5b	OCH ₃	-9.2	-9.8	4.8 \pm 0.20	SA
5c	CH ₃	-8.7	-9.8	4.8 \pm 0.30	5.2
5d	F	-8.6	-10.2	9.6 \pm 0.20	SA
5e	Cl	-8.7	-10.1	7.5 \pm 0.22	SA
5f	CF ₃	-8.3	-10.0	4.4 \pm 0.07	SA
Ácido glicirretínico	-	-7.6	-7.2	62.0 \pm 5.0	SA
Ácido ursólico	-	-8.0	ND	5.6 \pm 0.23	SA
Suramina	-	ND	ND	4.1 \pm 0.12	SA
Acarbosa	-	ND	-8.7	NA	26.8

CONCLUSIONES: Se obtuvieron 12 derivados semisintéticos del ácido glicirretínico con actividad inhibitoria sobre la enzima PTP1B. El inhibidor más potente es el derivado indólico con un grupo CF₃ (**4f**), el cual es 25 veces más potente que el AG y casi dos veces más potente que los inhibidores ácido ursólico y suramina. Por otro lado, el derivado *N*-fenilpirazólico del AG (**5c**) con un grupo CH₃, tuvo actividad dual sobre la PTP1B y α -glucosidasa. Este compuesto tiene una potencia similar al ácido ursólico y a la suramina como inhibidor de la PTP1B, pero es 5 veces más potente que la acarbosa (fármaco de referencia) como inhibidor de la α -glucosidasa. Ambos compuestos, se perfilan como buenos candidatos para estudios futuros *in vivo* como agentes antidiabéticos y anti-obesidad.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Tonks, N. K., Diltz, C. D., & Fischer, E. H. Purification of the major protein-tyrosine-phosphatases of human placenta. *Journal of Biological Chemistry* **1988**, 263(14), 6722-6730.
2. Tonks, N. K. PTP1B: from the sidelines to the front lines!. *FEBS letters* **2003**, 546(1).
3. Lebovitz, H.E. ALPHA-GLUCOSIDASE INHIBITORS. *Endocrinol. Metab. Clin. N. Am.* **1997**, 26, 539-551.
4. Tundis, R.; Loizzo, M.R.; Menichini, F. Natural Products as α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitors and Their Hypoglycaemic Potential in the Treatment of Diabetes: An Update. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2010**, 10, 315-331.
5. Lauren, D. R., Jensen, D. J., Douglas, J. A., & Follett, J. M. Efficient method for determining the glycyrrhizin content of fresh and dried roots, and root extracts, of Glycyrrhiza species. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques* **2001**, 12(5), 332-335.
6. Karaoğul, E., Parlar, P., Parlar, H., & Alma, M. H. (2016). Enrichment of the glycyrrhizic acid from licorice roots (*Glycyrrhiza glabra* L.) by isoelectric focused adsorptive bubble chromatography. *Journal of analytical methods in chemistry* **2016**
7. Kalaiarasi, P., & Pugalendi, K. V. Antihyperglycemic effect of 18 β -glycyrrhetic acid, aglycone of glycyrrhizin, on streptozotocin-diabetic rats. *European journal of pharmacology* **2009**, 606(1-3), 269-273
8. Sen, S., Roy, M., & Chakraborti, A. S. Ameliorative effects of glycyrrhizin on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2011**, 63(2), 287-296.
9. Na, M., Cui, L., Min, B. S., Bae, K., Yoo, J. K., Kim, B. Y., ... & Ahn, J. S. Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity of triterpenes isolated from *Astilbe koreana*. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2006**, 16(12), 3273-3276.
10. Seong, S. H., Nguyen, D. H., Wagle, A., Woo, M. H., Jung, H. A., & Choi, J. S. Experimental and computational study to reveal the potential of non-polar constituents from *Hizikia fusiformis* as dual protein tyrosine phosphatase 1B and α -glucosidase inhibitors. *Marine drugs* **2019**, 17(5), 302.
11. Wang, L. J., Jiang, B., Wu, N., Wang, S. Y., & Shi, D. Y. Natural and semisynthetic protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) inhibitors as anti-diabetic agents. *RSC Advances* **2015**, 5(60), 48822-48834.
12. Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of computational chemistry* **2009**, 30(16), 2785-2791.
13. Diaz-Rojas, M.; Raja, H.; Gonzalez-Andrade, M.; Rivera-Chavez, J.; Rangel-Grimaldo, M.; Rivero-Cruz, I.; Mata, R., Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors from the fungus *Malbranchea albolutea*. *Phytochemistry* **2021**, 184, 112664.
14. Rangel-Grimaldo, M.; Macias-Rubalcava, M. L.; Gonzalez-Andrade, M.; Raja, H.; Figueroa, M.; Mata, R., α -Glucosidase and Protein Tyrosine Phosphatase 1B Inhibitors from *Malbranchea circinata*. *J Nat Prod* **2020**, 83, (3), 675-683.

RESOLUCIÓN ENZIMÁTICA DE FENILALANINA, TRIPTOFANO Y LEUCINA CON KAPS

Héctor M Luna Contla*, Liliana Hernández Vázquez, Ernesto Sánchez Mendoza, Aida Solís Oba, Julia Cassani Hernández, R. Marlen Martínez Casares

Departamento de Sistemas Biológicos

Laboratorio de Biocatálisis Aplicada

*Autor de correspondencia:

Correo: lchm1964@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Biocatálisis, hidrólisis enzimática, polvo de riñón, enantioespecífica, aminoácidos.

INTRODUCCIÓN: El uso de reacciones enzimáticas en síntesis orgánica ofrece un mejoramiento en la selectividad, además de productos con mayor pureza, disminución de subproductos y bajos costos. Las enzimas son, en general, no son tóxicas, biodegradables y no dañan la salud y al medio ambiente. El uso práctico de reacciones biocatalíticas ha creado un tremendo avance en el descubrimiento, diseño sustentable de nuevos compuestos químicos; convirtiéndose en una herramienta dentro de la química verde.

α -Aminoácidos son una de las clases de productos naturales más importantes que juegan papeles fundamentales en química y biología. Además, son importantes sintones para la construcción de proteínas y son bloques importantes para la síntesis orgánica y organocatálisis (1,2,3). Su disponibilidad, bajo costo y alta pureza enantiomérica los hace valiosas materias primas para la síntesis de multitud de intermediarios. Los D-aminácidos son menos abundantes en la naturaleza, pero presentan interesantes características que estabilizan conformaciones en polipéptidos (4).

Hasta la fecha, se han descrito diversos métodos enzimáticos para la producción de L-aminoácidos ópticamente puros, como los procesos de la hidantoinasa, amidasa y acilasa. Estos métodos aprovechan la enantioespecificidad o enantioselectividad de al menos una de las enzimas involucradas en el proceso, para obtener D- o L-aminoácidos a partir de sustratos racémicos (5).

Las acilasas de diferentes orígenes, tienen una amplia aplicación en biotecnología para la separación de mezclas racémicas de aminoácidos en forma de catalizadores heterogéneos insolubles. La Acilasa I (C.E.3.5.1.14) es un dímero con una masa molecular de 85500 y cada subunidad está constituida por 772 aminoácidos; presente en multitud de tejidos animales, principalmente en riñón e hígado (6). La importancia práctica de esta enzima es la gran estereoespecificidad en reacciones con los derivados *N*-acilados de aminoácidos.

Se ha observado que, en algunos casos, no es necesario aislar las enzimas para obtener buenos resultados en resolución de *N*-acetil-aminoácidos (7). En este trabajo se utilizan los polvo acetónicos de riñón (KAPs) de varias especies para efectuar la hidrólisis de aminoácidos *N*-

acetilados teniendo excelentes resultados. Cabe mencionar que a pesar de las múltiples enzimas presentes en este material crudo, solo se manifiesta la actividad de acilasa.

OBJETIVO:

Estudiar la actividad *N*-acilasa de los polvos acetónicos de riñón (KAPs), de diferentes especies, para la resolución de tres aminoácidos (leucina, fenilalanina y triptófano), para establecer su generalidad y alcances.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Procedimiento general para preparar los KAPs: Riñones frescos (aprox. 142 g) fueron licuados en 420 mL de acetona y filtrados a vacío. La pasta resultante fue tratada de igual manera dos veces más. El sólido resultante fue secado al aire dentro de la campana. El procedimiento produjo 22.4 g de polvo seco, el cuál se guardó en frascos bien cerrados en el refrigerador (7).

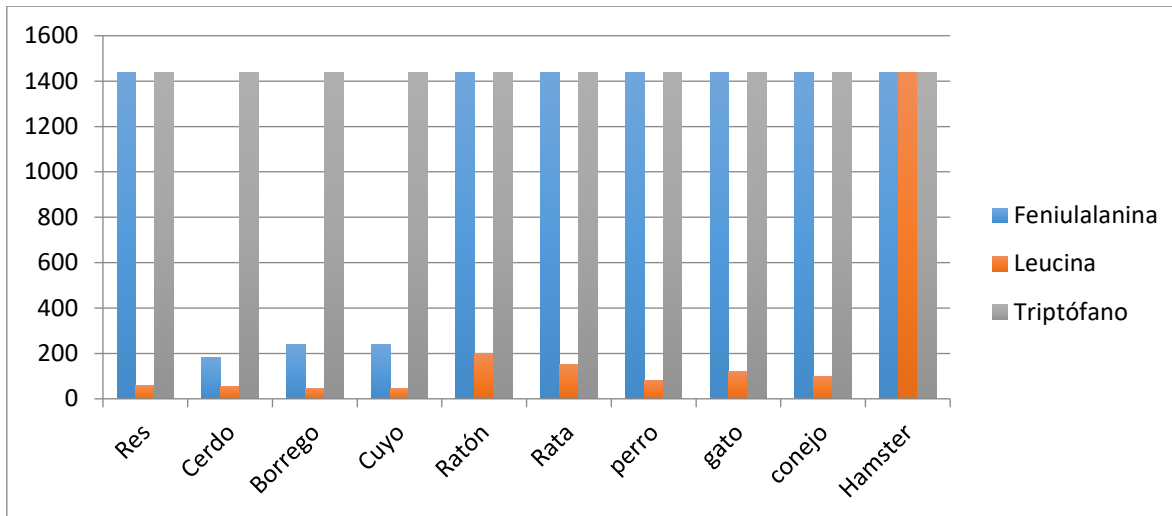
Reacción enzimática general: A 5.0 ml de una solución de los *N*-Acetil aminoácidos en una solución buffer (10 mM) y 0.6 mL de una solución 2mM de CoCl₂ (a pH 7.5), fue precalentada a 36-37° C por 15 min, el KAP correspondiente fue adicionado (en una relación 1:1, w/w), entonces la mezcla de reacción fue agitada. Se tomaron alícuotas a diferentes tiempos (15, 30, 60, 120, 180, 240 y 1440 min.) para el seguimiento del progreso de la reacción hasta un máximo de 24 h. Cada alícuota de 20 µL de reacción fue mezclada con 20 µL de solución de ácido tricloroacético al 10% en un vial Eppendorf, la mezcla se dejó reposar por 5 min, y centrifugada (13000 rpm/3 min), posteriormente se transfirió a vial de HPLC, almacenada en refrigeración, hasta su análisis por HPLC (7).

RESULTADOS:

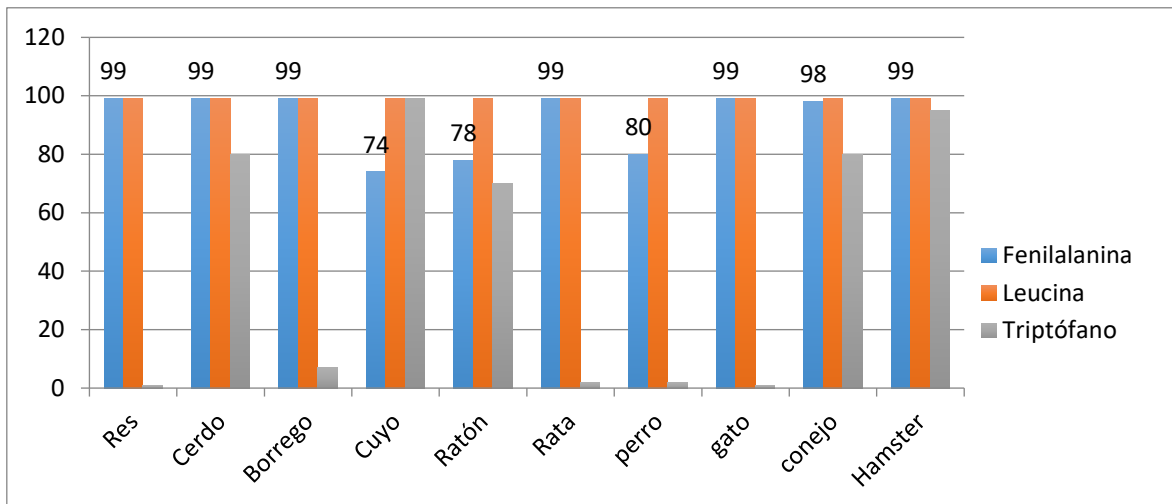
En un trabajo previo, se determinó el porcentaje de nitrógeno proteico, como un estimador del contenido enzimático (7), resultando que los KAPs de roedores (ratón, rata, cuyo y hamster), mostraron un 80-85% de proteína en base a tejido seco, para los otros (res, borrego, ternera, cerdo, perro y gato) el contenido de proteína fue de 72-78%. Para la evaluación de las reacciones de hidrólisis se utilizaron dos parámetros, el tiempo para llegar al equilibrio, o sea la máxima conversión; y el porcentaje final de conversión.

A continuación se efectuó el estudio de la hidrólisis de los tres *N*-acetilaminoácidos racémicos, fenilalanina, triptófano, leucina. Para ello se prepararon y caracterizaron los derivados *N*-acetilados correspondientes. Posteriormente se desarrolló el método cromatográfico (HPLC), con la columna quiral Chirobiotic T, eluyendo con buffer de trietilamina-ácido acético y metanol; cabe mencionar que estos aminoácidos cuentan con un solo grupo acetilable/hidrolizable. Los resultados se muestran en las siguientes gráficas.

Gráfica 1. Tiempo (min) para alcanzar el equilibrio.



Gráfica 2. Porcentajes de conversión final



Los resultados respecto al tiempo para alcanzar el equilibrio (Gráfica 1) indicaron con la *N*-acetilfenilalanina que, a excepción de los KAPs de borrego, cerdo y cuyo (4, 3, 4 horas, respectivamente) el tiempo de reacción para llegar al equilibrio fue de 24 h; con conversiones mayores del 99%, exceptuando para el ratón, cuyo y perro (que estuvieron entre 75-80%) (Gráfica 2). Para el caso del *N*-acetiltriptófano, todos los KAPs necesitaron al menos 24 h para llegar al equilibrio (Grafica 1), con conversiones muy bajas para los casos de los KAPs de res, borrego, rata, perro y gato (menores al 5%); para los riñones de cerdo, ratón, hámster, cuyo y conejo, las conversiones fueron

entre 70 y 98%. (Gráfica 2) Por otro lado, para la *N*-acetileucina, los tiempos para llegar al equilibrio fueron sorprendentemente cortos, menores a una hora, a excepción los riñones de rata y hámster que necesitaron al menos 24 h. (Gráfica 1); con relación al porcentaje de conversión, en todos los casos fueron mayores al 99%. (Gráfica 2)

Con relación a la enantioselectividad, todos los KAPs catalizaron la hidrólisis del enantiómero L, aun cuando en reacciones con periodos cortos se continuaron hasta por 24 h.

CONCLUSIONES: Efectivamente existen diferencias entre los tres aminoácidos *N*-acetilados, se esperaría que con otros compuestos sucedería lo mismo, por lo que se requeriría de reacciones de prueba para evaluar la aplicabilidad de estos biocatalizadores crudos. La reacción es enantioespecífica. Además, los KAPs muestran un alto potencial para ser biocatalizadores fácilmente accesibles y bajo costo.

BIBLIOGRAFÍA:

1. J. F. Sardina and H. Rapoport, "Enantiospecific synthesis of heterocycles from α -amino acids" *Chemical Reviews*, vol. 96, no. 6, pp. 1825–1872, **1996**.
2. F. P. J. T. Rutjes, L. B. Wolf, and H. E. Schoemaker, "Applications of aliphatic unsaturated non-proteinogenic α -H- α -amino acids," *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*(24), 4197–4212, **2000**.
3. J. Kaiser, S. S. Kinderman, B. C. J. van Esseveldt et al., "Synthetic applications of aliphatic unsaturated α -H- α -amino acid," *Organic and Biomolecular Chemistry*, 3(19), 3445–3467, **2005**.
4. S. R. Gracia, K. Gaus, and N. Sewald, "Synthesis of chemically modified bioactive peptides: recent advances, challenges and developments for medicinal chemistry," *Future Medicinal Chemistry*, 1(7), 1289–1310, **2009**.
5. P. Soriano Maldonado "Producción enzimática de l-aminoácidos ópticamente puros mediante resolución cinética dinámica" Tesis doctoral, Universidad de Almería, España. **2014**.
6. Holger Lindner· Sabine Höpfner· Margot Täfler-Naumann· Michael Miko· Lutz Konrad· Klaus-Heinrich Röhm "The distribution of aminoacylase I among mammalian species and localization of the enzyme in porcine kidney" *Biochimie* 82 (2), 129-137, **2000**.
7. Héctor Luna, Liliana Hernández-Vázquez, Herminia I. Pérez, Norberto Manjarrez, Aida Solís, Julia Cassani. "Comparative study on the N-acylase activity of mammalian kidney acetone powders (KAPs)" *J. Mex. Chem. Soc.* 57(1), 43-46, **2013**.

Área

Productos Biológicos

Ponencias

PRESENCIA DE SISTEMAS BIOSINTÉTICOS PKS Y NRPS EN ACTINOBACTERIAS PATÓGENAS.

González-Nava Janette Berenice, Sánchez-Saucedo Nora, Sandoval-Trujillo Horacio

Resumen

Los actinomicetos están presentes en el suelo y representan una alta porción de la microbiota del medio, principalmente de la rizosfera jugando un papel importante en las comunidades microbianas asociadas a plantas. Algunos géneros predominan como saprófitos, mientras que otros son endófitos, simbioses benéficos o incluso patógenos de plantas y animales, y son ampliamente reconocidos por su potencial en biocontrol.

La diversidad del filo es amplia e incluye especies benéficas, viviendo como microbiota en animales y personas; pero también especies patógenas. *Streptomyces* causa “costra” en plantas y se conoce por su habilidad para causar necrosis y lesiones en cultivos de tubérculos económicamente importantes como la papa. *Nocardia* puede ser oportunista infectando a personas inmunocomprometidas provocando una infección llamada actinomicetoma.

Por otro lado, los actinomicetos tienen un claro potencial como fuente de nuevos antibióticos, antifúngicos, agentes anticancerígenos, degradadores de hidrocarburos y otros metabolitos secundarios que podrían ser utilizados en medicina humana y animal; para el biocontrol de plagas en cultivos y como promotores de crecimiento en plantas.

Con el rápido desarrollo en los campos de genómica, biología sintética, ecología y el importante requerimiento de nuevos compuestos antimicrobianos para combatir la resistencia antimicrobiana, la biología de Actinobacteria es ampliamente dinámica y se están realizando importantes estudios en este campo.

En los proyectos del Laboratorio de Producción de Biológicos se estudian actinomicetos de origen clínico, utilizando técnicas de biología molecular y herramientas bioinformáticas para buscar en las cepas uno o más sistemas biosintéticos, tales como PKS (policétido sintasa) y NRPS (policétidos sintetasa no ribosomales), que nos permitan predecir la producción de metabolitos secundarios



IX Congreso del Departamento de Sistemas Biológicos



con actividad farmacológica y se evalúa su potencial antimicrobiano contra cepas multirresistentes.

Posible reducción de la edad epigenética asociada al tratamiento con clozapina a largo plazo en pacientes con trastornos psicóticos.

Alberto Ortega Vázquez¹, Blanca Estela Pérez Aldana², José Jaime Martínez Magaña³, Yerye Gibrán Mayén Lobo¹, David José Dávila Ortiz de Montellano⁴, Carlos Luis Aviña Cervantes⁵, Alma Delia Genis Mendoza³, Emanuel Sarmiento⁶, Ernesto Soto Reyes Solis⁷, Isela Esther Juárez Rojop⁸, Carlos Alfonso Tovilla Zarate⁹, Thelma Beatriz Gonzalez Castro¹⁰, Humberto Nicolini³, Nancy Monroy Jaramillo⁴, Marisol López López¹.

Institución(es): ¹Depto. de Sistemas Biológicos, UAM-Xochimilco. ²Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, ³Laboratorio de Genómica de Enfermedades Psiquiátricas y Neurodegenerativas, INMEGEN. ⁴Depto. de Genética, INNNMVS. ⁵Depto. de Psiquiatría, INNNMVS, ⁶Hospital Psiquiátrico Infantil Juan N Navarro. ⁷Depto. de Ciencias Naturales, UAM-Cuajimalpa. ⁸División Académica de Ciencias de la Salud, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), ⁹División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco, UJAT, ¹⁰División Académica Multidisciplinaria de Jalpa de Méndez, UJAT.

Los pacientes con trastornos psicóticos presentan un riesgo de mortalidad elevado en comparación con la población general. Algunos estudios a largo plazo han demostrado efectos benéficos de los antipsicóticos; en especial, el tratamiento continuo con clozapina (CLZ) se asocia con tasas de mortalidad significativamente menores comparado con otros antipsicóticos; aunque se desconocen los mecanismos de dicho efecto se cree que podría deberse a cambios en la metilación del DNA.

Objetivo.

Investigar la relación entre los cambios en el metiloma, el deterioro cognitivo, el envejecimiento prematuro y la respuesta farmacológica a CLZ en pacientes con trastornos psicóticos primarios.

Metodología.

A partir de DNA de sangre periférica, se analizó el metiloma mediante el microarreglo *Infinium MethylationEPIC* en 31 pacientes con trastornos psicóticos tratados con CLZ y de 56 pacientes con trastornos psiquiátricos sin tratamiento (protocolo INNN_38/19). Los pacientes Tx con CLZ fueron estratificados por sexo, edad y años de tratamiento. Se determinó la delta de edad (Δ) como la diferencia entre la edad epigenética (calculada con los relojes de Hannum, Horvath y PhenoAge) y la edad cronológica. Los sitios de metilación diferencial entre ambos grupos fueron determinados por modelos de regresión lineal.

Resultado(s)

Se encontró una correlación de la edad cronológica con diferentes algoritmos para el cálculo de la edad epigenética (Horvath, Hannum y Phenoage) en los pacientes

tratados con CLZ. La Δ edad en los pacientes con tratamiento con CLZ presentaron un promedio menor de edad epigenética en comparación con los pacientes sin tratamiento previo. Después de la estratificación la diferencia se mantuvo en los pacientes masculinos, estos resultados sugieren que la CLZ influye en la edad epigenética en leucocitos. También, identificamos 44,716 sitios diferencialmente metilados; incluyendo 13,483 genes entre ambos grupos. 87.7% de ellos estuvieron hipometilados en los pacientes tratados con CLZ. Estos sitios incluyeron genes de rutas de longevidad, tales como *ADCY1-ADCY9*, *ADIPOR1*, *AKT1*. Por otro lado, encontramos que la vía de señalización del estrógeno también estaba hipometilada, incluido el gen *ESR1*, existen variantes genéticas reportadas en este gen que se han asociado con la longevidad en humanos. Además, se encontró en el subenriquecimiento de interacción proteína-proteína que los genes *FOXO1* y *FOXO3* están enriquecidos en la vía reguladora de la longevidad, donde interactúan con las proteínas de señalización AMPK y con la vía de señalización de la insulina. Se ha propuesto que la acción de estos genes puede retrasar el envejecimiento, a través de mecanismos como la autofagia o la lipofagia, entre otros.

Conclusión(es)

La CLZ causa cambios en el metiloma del DNA que conducen a una menor Δ de edad en pacientes con trastornos psicóticos. Se requieren estudios longitudinales para confirmar nuestras observaciones de un probable efecto geroprotector de la CLZ. Nuestros hallazgos plantean un mecanismo interesante que debe explorarse para mejorar la esperanza de vida y mejorar los efectos del envejecimiento de los pacientes tratados con CLZ.

TÍTULO PRESENCIA DE CÉLULAS CD161 PRODUCTORAS DE IL-17 A EN
ACTINOMICETOMAS POR *Nocardia brasiliensis* O POR *Actinomadura
madurae*

Alejandro Palma Ramos
Laura E Castrillón Rivera
Jorge Ismael Castañeda Sánchez
Autor de correspondencia: Alejandro Palma Ramos. alpalma@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: IL-17; actinomicetoma; *Nocardia brasiliensis*; *Actinomadura madurae*

INTRODUCCIÓN: El micetoma es una infección crónica de la piel y de los tejidos subyacentes con tendencia a afectar huesos, en el estudio histopatológico se observan "granos" en medio de un absceso constituido por leucocitos polimorfonucleares, células plasmáticas, linfocitos, histiocitos, células gigantes y neoformación vascular y es posible encontrar células Th17 que expresan el receptor CD161⁺ y producen IL-17 A, que actúa sobre células epiteliales, endoteliales, fibroblastos, así como otras células del sistema inmune, activándolas para que produzcan citoquinas pro-inflamatorias y producir péptidos antimicrobianos y atraer células al lugar de inflamación.

OBJETIVO (S): Identificar las poblaciones de linfocitos CD161⁺ productores de IL-17A (Th17) en células inflamatorias de actinomicetomas por *Nocardia brasiliensis* y *Actinomadura madurae*.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio prospectivo efectuado de enero a diciembre de 2020 de las células CD161⁺ en el que se utilizaron cortes de muestras de 8 pacientes con micetoma del Hospital General Manuel Gea González, Ciudad de México, una muestra por *Actinomadura madurae* y 7 por *Nocardia brasiliensis*. Para las células productoras de IL-17A se obtuvieron 9 muestras, 7 por *N. brasiliensis* y 2 por *A. madurae*, a las cuales se les efectuaron dos cortes, uno para hematoxilina eosina y el otro para el marcaje.

RESULTADOS: Se encontraron un promedio de 4 células CD161⁺ en los actinomicetomas por *N. brasiliensis* y 16 células en los producidos por *A. madurae*. El 29% de los actinomicetomas por *N. brasiliensis* mostró abundante número de células productoras de IL-17A en la zona II. Para *A. madurae* se observaron en las muestras abundantes células productoras de IL-17A en la misma zona.

CONCLUSIONES: Se encontró baja presencia de células CD161⁺ productoras de IL-17A (Th17) en los actinomicetomas; sin embargo, puede apreciarse a esta citocina en alta concentración en la zona II en la respuesta inflamatoria de la lesión, por lo que la existencia de IL-17A puede provenir de otras células

BIBLIOGRAFÍA:

1. López MR, Méndez TL, Bonifaz A, Arenas GR, Mayorga J, Welsh O, Vera CL, Padilla DM, Contreras PC, Chávez G, Estrada R, Hernández-HF, Manzano GP. Actualización de la epidemiología del micetoma en México. Revisión de 3,933 casos. Gac Med Mex 2013; 149: 586-592.
2. Serrano JA, Sandoval AA. El micetoma revisión. Rev Soc Ven Microbiol 2003; 23 (1): 70-79.
3. Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, Harrington LE IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. Annu Rev Immunol 2007; 25: 821-85. DOI: 10.1146/annurev.immunol.25.022106.141557

4. Vélez VN, París ÁS, García ML. Interleuquina-17: características, vías de diferenciación, señalización y funciones biológicas. IATREIA 2007; 20 (2): 186-195.
5. Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, et al. Transforming growth factor- β induces development of the Th17 lineage. Nature 2006; 441: 231- 234. DOI: 10.1038/nature04754.
6. Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK IL-17 and Th17 cells. Annu Rev Immunol 2009; 27: 485-517. DOI: 10.1146/ annurev.immunol.021908.132710.
7. Xu S, Cao X. Interleukin-17 and its expanding biological functions. Cell Mol Immunol 2010; 7 (3): 164-174. DOI:10.1038/cmi.2010.21.
8. Dong-Chen. Diversification of T-helper-cell lineages: Finding the family root of IL-17-producing cells. Nature Rev Immunol 2006; 6: 329-333. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri1807>.
9. Park H, Li Z, Yang X, Chang S, Nurieva R, Wang YH, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing Inteleukin-17. Nature Immunol 2005; 6: 1133-1141. DOI: 10.1038/ni1261.
10. Flores GY, Talamás RP. Interleucina 17, funciones biológicas y su receptor. México. REB 2012; 31 (1): 3-9.
10. Flores GY, Talamás RP. Interleucina 17, funciones biológicas y su receptor. México. REB 2012; 31 (1): 3-9.

IDENTIFICACIÓN ESTRUCTURAL DE BEAUVERICINA PRODUCIDA POR *Fusarium oxysporum* AB2 BAJO CONDICIONES DE CULTIVO SÓLIDO

Juan Esteban Barranco Florido^{1*}, Silvia Rodríguez Navarro² Octavio Loera Corra³ José Norberto Vásquez Bonilla⁴ Edith Ponce Alquicira³.

¹Departamento de Sistemas Biológicos. UAM-Xochimilco

²Departamento de Producción Agrícola y Animal. UAM-Xochimilco

³Departamento de Biotecnología. UAM-Iztapalapa

⁴Doctorado en Biotecnología. UAM-Iztapalapa

*Autor de correspondencia: Juan Esteban Barranco Florido

Correo: barranco@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Beauvericina, Cultivo Sólido, Metabolito Secundario.

INTRODUCCIÓN: La beauvericina (BEA) es un metabolito secundario producido por algunos hongos entomopatógenos (HE) tales como *Cordyceps* sp. y *Beauveria bassiana*, así como hongos fitopatógenos del género *Fusarium* sp. La molécula tiene diversas actividades biológicas tales como actividad insecticida contra diferentes órdenes de insectos, actividad antibacteriana, antifúngica, antiviral y actividad anticancerígena por citotoxicidad en diversas líneas celulares cancerosas y en el decrecimiento de tumores¹. La beauvericina es un depsipéptido cíclico perteneciente a la familia de enantinas y es sintetizada por el complejo enzimático beauvericina sintetasa. Esta molécula está constituida por dos péptidos que se unen alternativamente: ácido hidroxiiisovalérico y N-metil-fenilalanina². Debido a que la BEA tiene un amplio rango de actividades biológicas, se convierte en una molécula de alto valor agregado que incrementa el interés de ser producida por la industria farmacéutica. El mejoramiento del medio de cultivo y la utilización de un sistema de cultivo sólido tiene diversas ventajas como: un microambiente adecuado para el crecimiento de hongos filamentosos, baja contaminación bacteriana, uso de desechos agroindustriales y por la alta productividad de un gran número de metabolitos de origen fúngico, tales como enzimas, metabolitos secundarios, antibióticos, pigmentos, alcaloides, factores de crecimiento y compuestos aromáticos, entre otros, respecto a los cultivos líquidos³. Este sería el primer trabajo sobre la producción de BEA en cultivo sólido y su posterior escalamiento.

OBJETIVO (S): El objetivo de este trabajo es evaluar la producción de BEA en un sistema de cultivo sólido con un medio de cultivo optimizado en un soporte sólido de poliuretano (PUF).

MATERIALES Y MÉTODOS: Se utilizó una cepa de *Fusarium oxysporum* AB2 que fue actividad en agar PDA; para la producción BEA⁴ se empleó un medio de cultivo optimizado ~~para la producción de~~, el inóculo fue de 2×10^6 conidios mL⁻¹, el soporte inerte fueron cubos de 0.7 mm de espuma de poliuretano (PUF) embebidos con el medio a una humedad del 75 % en matraces Erlenmeyer de 250 mL, las condiciones de cultivo fueron a 25 °C durante 25 días. Para el procedimiento de purificación de la BEA, el PUF con la biomasa generada fue sometida a baños sónicos con metanol al 84% (v/v), del extracto

obtenido se inició la prepurificación de la BEA usando cartuchos no polares C18. Posteriormente, los extractos prepurificados de los días 3 al 24 del cultivo fueron analizados por HPLC en un cromatógrafo 1260 infinity Agilent Technologies® de bomba cuaternaria y un detector UV-VIS 1200, utilizando un método modificado de Jiang *et al.* HPLC⁵. Se obtuvieron fracciones de 1.5 ml que nuevamente fueron analizadas por HPLC y la fracción 8 del HPLC fue utilizada por contener la BEA que fue confirmada mediante espectroscopía de masas (MS) de Desorción/ionización Laser Asistida por Matriz (MALDI-TOF) con un método modificado de Palyzova⁶, con una matriz de ácido α -ciano-4-hidroxicinámico. Se utilizó el software Compass 3.4 y el Flex Analysis para el procesamiento de los espectros.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Para la identificación de la BEA producida en el cultivo sólido, se inició un procedimiento de purificación por HPLC, donde la fracción 8 se identificó del pico de la BEA similar al estándar. Posteriormente a la cuantificación y separación de la BEA, se realizó el análisis por espectroscopia de masas y en el análisis MALDI-TOF presentó tres señales (Fig. 1), la primera a 784 m/z correspondió a la masa del ion molecular de la BEA, la segunda a 806 m/z correspondió a la masa del aducto formado entre la BEA con el ion sodio y la tercera a 822 m/z correspondiente al aducto entre la BEA con el ion potasio, estas mismas señales aparecieron en el estándar de BEA, por lo que se determinó que la BEA fue producida por *F. oxysporum* AB2 en el cultivo sólido.

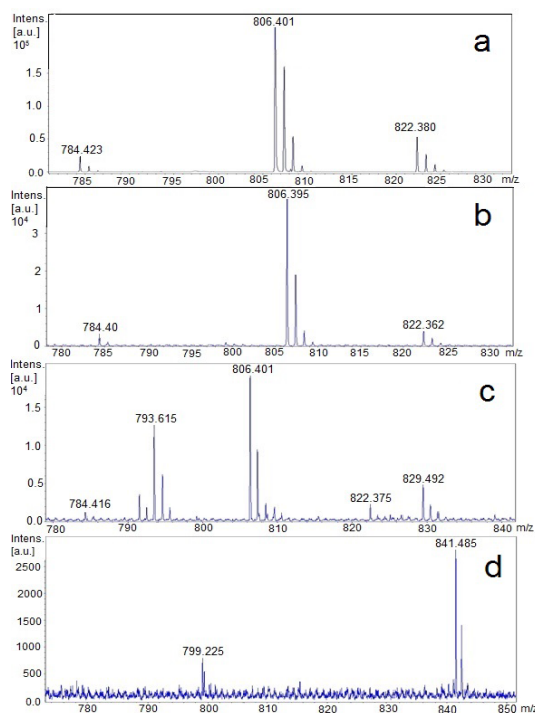


Figure 1. Espectro de masas MALDI-TOF. estándar de BEA ($60 \mu\text{g mL}^{-1}$) (a), fracción 8.4 - 9.4 de HPLC de *F. oxysporum* AB2 (b), fracción 8.4 - 9.4 de HPLC de *E. niram* TORT (c), control negativo (d). Rango m/z 780 - 830.

La figura 2 muestra la producción de BEA en los dos sistemas de cultivo, para el cultivo líquido la producción de BEA fue de 0.86 mg L^{-1} en cambio para el cultivo sólido fue de 22.8 mg L^{-1} y al incrementar tres veces la concentración del medio, alcanzó una producción de 65.4 mg L^{-1} mostrando que el cultivo sólido es un mejor sistema para la producción de compuestos de alto valor agregado. Similares resultados obtuvieron Baños⁷ con la producción de lovastatina.

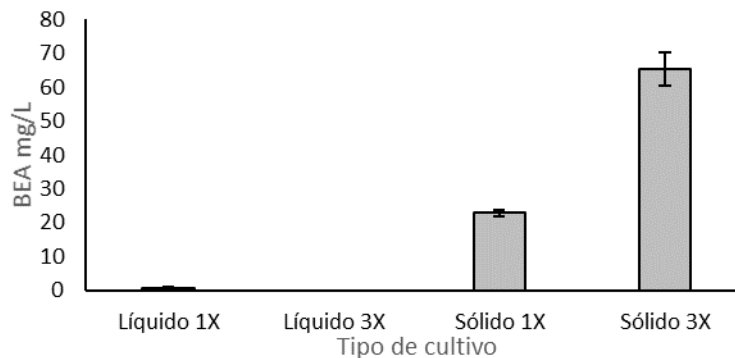


Figura 2. Producción de BEA ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) en cultivo líquido y sólido usando concentraciones 1X y 3X del medio de cultivo.

La figura 3 muestra la cinética del cultivo sólido durante 25 días, el crecimiento del hongo alcanza su máxima formación de biomasa a los 6 días, la producción de BEA más alta se tuvo a los 7 días de cultivo y se mantuvo hasta los 11 días, sin disminución de su concentración hasta el final del cultivo, el consumo total de glucosa fue a los 6 días del cultivo. Es el primer estudio donde la concentración de BEA se mantiene durante 5 días, sin que exista una disminución significativa como ocurre en la mayoría de los metabolitos Secundarios⁸. Otra de las principales contribuciones, es que nuestro sistema disminuye tiempos de producción, ya que alcanza el máximo de producción a los 7 días de cultivo, lo cual supera cualquier otro sistema descrito para la producción de BEA (hasta 30 días) para llegar al máximo de producción⁴.

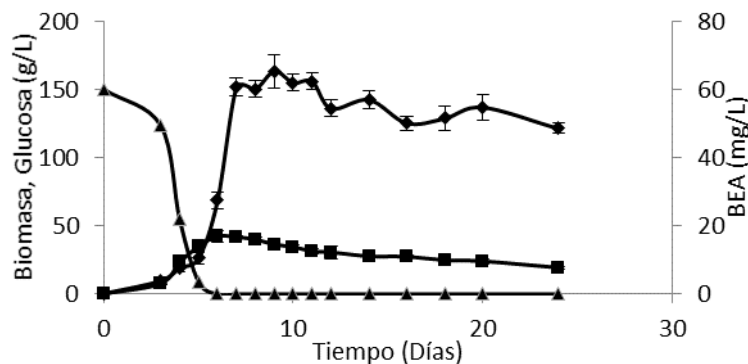


Figura 3. Cinética de producción de BEA con el medio 3X en el cultivo sólido. BEA (◆), Biomasa (■), glucosa (▲).

Conclusiones.

Por primera vez se tiene la identificación por espectroscopia de masas y la producción de BEA con *F. oxysporum* AB2 a partir de un sistema de cultivo sólido, teniendo su máxima producción da los 7 días de cultivo; y se sostiene sin disminución significativa hasta el día 11, con una alta productividad de la BEA al incrementar la concentración del medio cultivo similar a otros autores, pero en un tiempo más reducido y cuya molécula fue identificada por espectroscopia de masas

BIBLIOGRAFÍA:

1. Vásquez-Bonilla, N., Cabrera-Vega, E., Vázquez-Olvera, I., Gutiérrez-Nava, A., Hurtado-y de la Peña, M., Barranco-Florido, E. *Rev Mex Ciencias farmacéuticas*. **2017**, 48, 16-26.
2. Liuzzi, VC., Mirabelli, V., Cimmarusti, MT., Haidukowski, M., Leslie, JF., Logrieco, AF., Caliendo, R., Fancesca, F., Mule, G. **2017**, *Toxins* 9, 45-50.
3. Farinas, CS. *Renew. Sust. Energ. Rev.* **2015**, 52, 179-188.
4. Xu, L., Liu, Y., Zhou, L., Wu, J. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **2010**, 15, 460-466.
5. Jiang, X., Cheng, Y., Shi, L. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2013**, 29, 1263-1269.
6. Palyzová, A., Svobodová, K., Sokolová, K., Novák, J., Novotný, C. *Folia Microbiol.* **2019**, 64, 779-787.
7. Baños, JG., Tomasini, A., Szakács, G., Barrios-González, J. *J. Biosci. Bioeng.* **2009**, 108, 105-110.
8. Abdeljalil, S., Saibi, W., Ben Hmad, I., Baklouti, A., Mahmoud, F., Belghith, H., Gargouri, A. *Biotechnol. Appl. Biochem.* **2014**, 61, 432-440.

ACTIVIDAD ANTI-INFLAMATORIA DE JEFEA GNAPHALOIDES

Ana Laura Esquivel Campos[†], Felipe Mendoza Pérez[†], Julia Pérez Ramos^{*†}

[†]Departamento de Sistemas Biológicos

*Autor de correspondencia: Julia Pérez Ramos

Correo: jperezl@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Inflamación, macrófagos, *Jefea gnaphalioides*

INTRODUCCIÓN: Ante lesiones traumáticas, infecciosas, post-isquémicas, tóxicas o autoinmunes se induce una respuesta inflamatoria que puede ser aguda o crónica; la inflamación crónica puede contribuir a aparición de condiciones patológicas graves como autoinmunidad, diabetes y cáncer. Otras enfermedades asociadas a procesos inflamatorios son, colitis ulcerativa, enfermedades neurodegenerativas, espondilitis anquilosante, obesidad, EPOC, entre otras (Weiss, 2008; Nathan, 2002). La resolución de la inflamación está regulada por diferentes mediadores o cascadas de señalización celulares que actúan en los sitios de infección o lesión para restaurar la función de los tejidos, las principales células implicadas son los macrófagos que participan en la respuesta innata y adaptativa así como en las vías moleculares y celulares asociadas a inflamación mediante la producción de diversos pro-mediadores inflamatorios, así como su participación en la reparación y protección celular (Chen et al., 2020). Ante esta problemática de salud se emplean medicamentos antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos, que pueden causar efectos secundarios graves cuando se usan como tratamientos a largo plazo. Una alternativa son los productos naturales de donde se pueden obtener nuevos compuestos con actividad antiinflamatoria como la *Jefea gnaphalioides* que es una especie vegetal utilizada para tratar problemas inflamatorios, en nuestro país. Este estudio determinó la actividad antiinflamatoria y la composición del extracto metanólico de *Jefea gnaphalioides*.

OBJETIVO (S): Determinar la actividad antiinflamatoria y la composición del extracto metanólico de *Jefea gnaphalioides*.

MATERIALES Y MÉTODOS: El extracto se obtuvo calentando la planta en metanol a punto de ebullición durante 4 h, y luego se evaporó el solvente al vacío. La derivatización del extracto se realizó con Bis-(trimetilsilil) trifluoroacetamida, y la composición se determinó por GC-MS. Los fenoles totales y los flavonoides se determinaron mediante la reacción de Folin-Ciocalteu AlCl₃ respectivamente. La actividad antioxidante de *J. gnaphalioides* se determinó por el método DPPH. Por otro lado, los efectos antiinflamatorios agudos y crónicos se evaluaron en edema de oreja de ratón inducido con 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA). La toxicidad oral aguda también se probó en ratones a dosis de *J. gnaphalioides* de 5000, 2500 y 1250 mg/kg. Se determinaron los niveles de NO, TNF- α , IL-1 β e IL-6 en macrófagos J774A.1 estimulados por Lipopolisacárido (LPS). La

producción de interleucinas inflamatorias se midió mediante kits comerciales y el óxido nítrico se midió mediante la reacción de Griess.

RESULTADOS: La actividad antiinflamatoria de MEJG en el edema agudo de oído inducido por TPA fue del $80,7 \pm 2,8$ %. Este resultado fue un valor similar al obtenido con indometacina (IND) a la misma dosis ($74,3 \pm 2,8\%$). En la inflamación crónica inducida por TPA a dosis de 200 mg/kg, la inhibición fue del 45,7%, similar a la obtenida con IND (47,4%). MEJG. La MEJF no tiene efectos tóxicos incluso a una dosis de 5000 mg/kg. MEJG a 25, 50, 100 y 200 $\mu\text{g/mL}$ disminuyó la producción de NO, TNF- α , IL-1 β e IL-6 en macrófagos estimulados con LPS. Los principales compuestos en MEJG fueron α -D-glucopiranososa (6,71 %), ácido palmítico (5,59 %), D-(+)-trehalosa (11,91 %), Ácido Quínico (4,29%) y Aucubina (1,17%). El contenido fenólico total fue de 57,01 mg GAE/g y el contenido total de flavonoides fue de 35,26 mg QE/g MEJG tenía actividad antioxidante.

CONCLUSIONES: El extracto metanólico de *Jefea gnaphalioides* presenta actividad antiinflamatoria.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Weiss U. *Nature*. **2008**,24;454(7203):427.
2. Chen, LZ.; Wu, J.; Li, K.; Wu, QQ; Chen, R; Liu, XH; Ruan, BF. *Eur J Med Chem*. **2020**, 15;206.
3. Nathan, C. *Nature*. **2002**, 19-26;420(6917):846-52.

ANÁLISIS DE COMPONENTES DE LA BARRERA INTESTINAL EN RATONES MACHO SOMETIDOS A ESTRÉS

Guzmán-Mejía Fabiola¹, Jennifer Karume Gutiérrez-Galicia², Marycarmen Godínez-Victoria², Daniel Efraín Molotla Torres¹, María Elisa Drago-Serrano¹

1 Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco (UAMX), Calzada del Hueso No. 1100 CP 04960, CDMX, México,

2 Sección de Estudios de Posgrado e Investigación, Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional (ESM-IPN), Plan de San Luis y Díaz Mirón s/n CP11340, CDMX, México

**Autor de correspondencia: María Elisa Drago-Serrano*

Correo: (mdrago@correo.xoc.uam.mx)

Palabras clave: Estrés, barrera intestinal, homeostasis.

INTRODUCCIÓN: La homeostasis intestinal denota un estado de equilibrio de cambios constantes del microambiente dependiente de la barrera intestinal; esta última tiene como función permitir el paso de moléculas inocuas y bloquear la entrada de agentes nocivos. La función de barrera intestinal implica la barrera bioquímica como es el caso del *mucus* formado por mucopolisacáridos y la barrera inmunitaria representada por la inmunoglobulina A (IgA) (Schoultz I 2020). La región proximal el *mucus* consta de una monocapa laxa mientras que en el colon existen dos capas: una laxa y debajo de ésta, otra capa fuertemente adherida a la superficie del epitelio. En cuanto a la IgA, su concentración aumenta de la región proximal hacia el colon (Agace WW 2017). La integridad funcional y/o estructural de los componentes de la barrera pueden ser alteradas por diversos eventos como el estrés (Caso JR 2008). El estrés se refiere a la captación sensorial y cognitiva de un estímulo ambiental (estresor), percibidas como una señal de alarma por el sistema nervioso central (percepción) que, a su vez, desencadena una reacción fisiológica de lucha y huida (respuesta) en el organismo (Dhabhar FS 2014). El estrés modula los componentes de la barrera a través de vías neuroendocrinas del eje cerebro intestino (Camilleri M 2012; Caso JR 2008). El eje cerebro-intestino conlleva la participación del eje hipotálamo pituitaria adrenal (HPA) y el sistema nervioso autónomo. Este último incluye al sistema nervioso simpático, parasimpático y al sistema nervio entérico (de Jonge WJ 2013). El estrés puede favorecer inflamación evidenciada por el aumento de lactoferrina fecal (Machorro-Rojas 2019) y promover la trasudación de proteínas sanguíneas como la albúmina hacia el lumen intestinal. Así mismo el estrés aumenta los niveles de hormonas como las catecolaminas que promueven el gasto energético y la reducción subsecuente del peso corporal. El estrés tiene efectos divergentes en el tracto intestinal debido a su regionalización neuroendocrina, sin embargo, su impacto sobre la homeostasis en la región proximal del intestino delgado y el colon aún son poco conocidos. Por lo anterior, la evaluación de parámetros de homeostasis en ratones podría ser un referente experimental para el desarrollo de formulaciones farmacológicas diseñadas para el control de disfunciones agravadas por el estrés como el síndrome de intestino irritable.

OBJETIVO GENERAL: Evaluar el efecto del estrés sobre algunos marcadores de homeóstasis intestinal.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

En ratones sometidos a estrés evaluar peso corporal, lactoferrina fecal y en la región proximal y en colon los mucopolisacáridos, IgA y albumina.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se trabajo con el modelo experimental de estrés por inmovilización en tablero previamente reportado (**Machorro-Rojas 2019**) aplicado 2 h durante 4 días continuos (Protocolo 176 DCBS.CICUAL.007.2020, febrero 26, 2020). Un lote de 12 ratones macho BALB/c de 8 semanas fue dividido en un grupo control (n=6) sin estrés y en un grupo sometido a estrés (n=6). Tras concluir el protocolo, se midió el peso corporal de los ratones y se recolectaron las heces antes de ser sacrificados con isoflurano. Se disecó una muestra de 5 cm del intestino delgado unida al píloro correspondiente a la región proximal (Px) y el colon sin incluir el ciego. En cada segmento se hicieron lavados con 2 ml de amortiguador salino fosfato pH 7.2 (PBS) adicionado con inhibidor de proteasas a fin de obtener muestras de líquido intestinal. Tras lavar, se disecó un segmento de 1 cm de cada región para cuantificar los mucopolisacáridos solubles mediante el método colorimétrico de azul alcian. La concentración de lactoferrina fecal se cuantifico mediante el ensayo indirecto ELISA en tanto que la concentración de IgA y albumina en los líquidos intestinales se cuantificaron mediante el ELISA tipo sándwich. Para los ensayos de ELISA fue necesario normalizar la concentración de proteína total cuantificada con el ensayo de Bradford a fin de expresar los datos en $\mu\text{g}/100 \text{ mg}$ de proteína total (PT). Los ensayos se realizaron, al menos, por duplicado con un total de datos de al menos n=12 por grupo. La comparación de los resultados del grupo control vs el grupo estresado se analizó con la prueba paramétrica *t* de Student o con la prueba no paramétrica de Mann-Whitney y las diferencias fueron consideradas significativas a valor de $p < 0.05$.

RESULTADOS:

En comparación con el grupo control (**Tabla 1**), en el grupo estresado el peso corporal ($p < 0.0001$) y la concentración de los mucopolisacáridos ($p < 0.05$) fueron significativamente menores, en tanto que la concentración de lactoferrina fecal ($p < 0.0001$) e IgA ($p < 0.01$) fueron significativamente más altos mientras que la concentración de albumina fue aparentemente más alta ($p > 0.05$). Estos resultados sugieren que el estrés por inmovilización en el tablero causa inflamación y alteraciones en la barrera intestinal de las regiones evaluadas.

Tabla 1. Resumen de resultados de los valores de P de las comparaciones del grupo estresado vs el grupo control.

Parámetro	Grupo estresado vs grupo control
Peso corporal (g)	↓ p<0.0001
Lf fecal (µg/ 100 mg PT)	↑ p<0.0001
Mucopolisacáridos (µg/100 mg PT)	↓ p<0.05 Px y colon
IgA (µg/ 100 mg PT)	↑ p<0.01 Px y colon
Albumina (µg/ 100 mg PT)	↑ p>0.05 Px y colon

Región proximal (Px), proteína total (PT), Lactoferrina (Lf), ↑ aumento, ↓ reducción

CONCLUSIONES:

Los datos indican que el modelo de estrés por inmovilización modula los parámetros que colaboran en el mantenimiento de la función de barrera intestinal.

Este estudio sirve como antecedente para comenzar a evaluar moléculas, y sus vías de señalización, cuya función sea revertir los efectos dañinos causados por el estrés en la región proximal del intestino delgado y el colon. En un futuro estas moléculas puedan ser blanco de formulaciones farmacéuticas diseñadas para el control de trastornos que sean exacerbados por el estrés, como lo es el síndrome de colon irritable.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Agace WW, McCoy KD. Regionalized Development and Maintenance of the Intestinal Adaptive Immune Landscape. *Immunity*. **2017** Apr 18;46(4):532-548
2. Camilleri M, Madsen K, Spiller R, Greenwood-Van Meerveld B, Verne GN. Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. *Neurogastroenterol Motil*. **2012** Jun;24(6):503-12.
3. Caso JR, Leza JC, Menchén L. The effects of physical and psychological stress on the gastrointestinal tract: lessons from animal models. *Curr Mol Med*. 2008 Jun;8(4):299-312.
4. Dhabhar FS. Effects of stress on immune function: the good, the bad, and the beautiful. *Immunol Res*. **2014** May;58(2-3):193
5. de Jonge WJ. The Gut's Little Brain in Control of Intestinal Immunity. *ISRN Gastroenterol*. **2013** Apr 4; 2013:630159.
6. Machorro-Rojas N, Sainz-Espuñes T, Godínez-Victoria M, Castañeda-Sánchez JI, Campos-Rodríguez R, Pacheco-Yepez J, Drago-Serrano ME. Impact of chronic immobilization stress on parameters of colonic homeostasis in BALB/c mice. *Mol Med Rep*. **2019** Sep;20(3):2083-2090.
7. Schoultz I, Keita ÁV. The Intestinal Barrier and Current Techniques for the Assessment of Gut Permeability. *Cells*. **2020** Aug 17;9(8):1909.

MICROBIOMAS, FUENTE DE MICROORGANISMOS DE INTERÉS PARA LA SALUD HUMANA, ANIMAL, VEGETAL Y DE SUELO

Raquel González-Vázquez¹, Martha Leyte-Lugo¹, Alejandro Azaola², Lino Mayorga Reyes², Felipe Mendoza-Pérez², Eduardo Zúñiga-León²

¹Catedrática CONACYT comisionada al Departamento de Sistemas Biológicos, ² Departamento de Sistemas Biológicos, Laboratorio Biotecnología, N-104. UAM-Xochimilco

Palabras clave: *Microbiotas, Bacterias probióticas, Bacterias no cultivables,*

INTRODUCCIÓN:

En la historia del hombre, los microorganismos han sido parte importante en su vida, aunque sin saberlo, las antiguas civilizaciones usaban las propiedades de algunos de ellos para la producción de vinos y cerveza, para la elaboración de pan y para la conservación de alimentos, entre otros. Actualmente, consideramos a los microorganismos un recurso dinámico fundamental para la vida de todas las especies animales, vegetales, de insectos, peces y en especial la humana. La sostenibilidad y la sustentabilidad de esas especies incluyendo el medio ambiente, no es posible sin la participación de las bacterias y ahora, con los procesos de edición de genes y de biología sintética, para la producción de farmoquímicos novedosos, alimentos y energéticos. En general, se puede decir que la economía de un país se puede beneficiar con el estudio de las bacterias y su aplicación en procesos biológicos e industriales. Sin embargo, es necesario seguir estudiando a los microorganismos ya que no podemos conservar lo que no conocemos, lo que no sabemos en qué cantidad existe y de lo que no sabemos que existe.

Las bacterias se encuentran en todos los ambientes de la naturaleza, ambientes extremos de temperaturas, de humedad, de acides o alcalinidad y de presiones atmosféricas. En esas condiciones, todos los microorganismos participan en procesos metabólicos que les permiten usar una diversidad de compuestos de la naturaleza como sustratos y producir un gran número de moléculas como producto del metabolismo primario o secundario que pueden ser excretados al medio ambiente donde pueden ser usados por otra diversidad de especies o por otros microorganismos o aprovechar que son secretados y ser utilizados como producto o intermediario en procesos industriales.

Nuestro grupo actualmente se dedica al estudio de la microbiota y de las bacterias que en ellas se encuentran. Microbiota intestinal de origen humano, de vacas y de monos aulladores (*Alouatta pigra*). También, de suelos agrícolas y de huertos agroecológicos. En todos los casos, es importante conocer su riqueza y diversidad de las consideradas sanas y compararlas con los patrones disbióticos de microbiotas consideradas no sanas y analizar la diversidad de bacterias cultivables y no cultivables para promover la conservación de la diversidad de bacterias. Consideramos que una microbiota saludable de individuos sanos es diversa, en suelos con marcadores como de la presencia de especies que intervienen en la fijación de nitrógeno, permite comparar microbiomas sanos y disbióticos. Sin embargo, no todas las microbiotas son conocidas en una riqueza, diversidad y presencia de especies

especializadas para la salud de cada nicho ecológico. También, para conocer el efecto de las microbiotas en la salud de las distintas especies o ambientes, se debe considerar la búsqueda de productos derivados o intermediarios del metabolismo, que pueden considerarse de interés para la medicina, la agricultura y la industria químico-farmacéutica, entre otras; por lo que cobra importancia el estudio de la metabolómica, la proteómica y la genómica de los microbiomas. También, estas consideraciones han sido un factor importante para desarrollar nuevas tecnologías enfocadas en el aislamiento, cultivo y estudio de bacterias interesantes y de nuevas bacterias. Hoy en día, el aislamiento de bacterias ha sido un reto para la comunidad científica; el conteo en placa es uno de los métodos más aplicados para explorar una diminuta parte de la diversidad existente (menos del 1% de la riqueza y diversidad bacteriana). Sin embargo, en los últimos años, tratando de profundizar en el conocimiento de la gran diversidad de bacterias en diferentes ambientes, se han explorado nuevas formas de aislamiento bacteriano que a su vez han ido evolucionado para permitir el aislamiento de bacterias denominadas no cultivables. Se está experimentando nuevos enfoques para el aislamiento y cultivo de bacterias, como son la incubación *in situ* que aprovecha los nutrientes y productos metabólicos presentes en ese medioambiente particular mediante el uso del iChip, un dispositivo diseñado la difusión de los nutrientes y metabolitos del entorno para su crecimiento. También, este nuevo método permite el aislamiento de microorganismos novedosos, incrementando el conocimiento de la diversidad bacteriana, su papel dentro de los ecosistemas, así como explorar la producción de MS potencialmente útiles en diferentes industrias como la farmacéutica, alimentaria y agrícola.

Con estos antecedentes, nuestra presentación pretende mostrar el desarrollo de los objetivos de trabajo para los próximos años donde se contemple el diagnóstico funcional y genómico de las bacterias cultivables y no cultivables, sus características probióticas y su posible uso en la salud humana, animal, vegetal, de suelos y especies vegetales en productos farmacéuticos y en procesos industriales.

Área

Tecnología Farmacéutica

Ponencias

COMPARACIÓN ESTADÍSTICA DEL CRITERIO DE SIMILARIDAD (F2) EN TABLETAS DE DICLOFENACO SÓDICO

M en C María Luisa Margarita Vázquez Ramírez®, Dra. Liliana Schifter Aceves*, M en C Leticia Ortega Almanza*, Dra Perla García Guzmán* Alumna Camacho Pedroza Brenda Liseth**, Alumno Silva Tinoco Jesús Enrique.***

*Profesores DSB. ** Alumnos Carrera QFB

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad.

Autor de correspondencia: ®

Correo: lramirez@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: disolución, diclofenaco sódico, factor de similitud.

INTRODUCCIÓN: La comparación de los perfiles de disolución de los diferentes medicamentos tanto de liberación rápida o prolongada se han llevado a cabo utilizando el factor de similitud f_2 .

A pesar de su uso por diversas agencias internacionales como la Food and Drug Administration (FDA) y la European Medicine Agency (EMA) se ha reportado que el factor f_2 es una estimación sesgada que no toma en cuenta las diferencias en disolución entre lotes tanto del medicamento de referencia como de prueba, además de ser insensible a las formas de los perfiles de disolución. De igual forma no se ha armonizado hasta que tiempo de muestreo en relación al porcentaje de fármaco disuelto debe tomarse en cuenta para realizar el cálculo de f_2 . (1)

De igual forma diversos estudios han reportado la sensibilidad del factor f_2 al cambiar el pH del medio de disolución y el tipo de aparato empleado. 2 y 3.

OBJETIVO: Evaluar el valor de f_2 para tabletas de diclofenaco sódico de liberación prolongada, en diferentes condiciones de pH y velocidades de agitación.

MATERIALES Y MÉTODOS: Disolutor Labindia tester 8000 (basic). Se realizaron diferentes pruebas de disolución con el aparato 2, utilizando las tabletas de referencia y 3 marcas de medicamento genérico. Se utilizó medio de disolución ácida con HCl a 30 rpm durante 1h, y condiciones alcalinas con buffer pH 6.5, 7.5 y 8.5 a diferentes rpm, 80, 100 y 120. Se tomaron muestras en los siguientes tiempos 2,3,4, 5, 17 y 18 h.

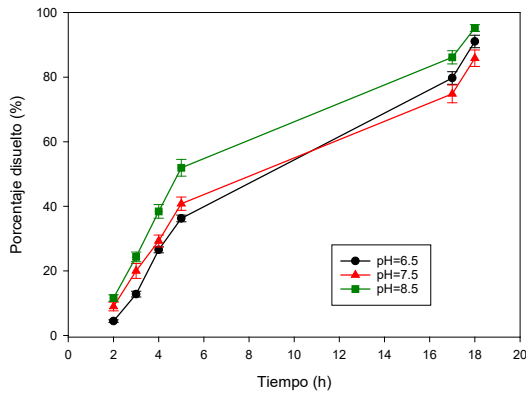
RESULTADOS: No se observaron diferencias en los perfiles de disolución para las diferentes velocidades de agitación 80,100 y 120 rpm de acuerdo con el análisis de medidas repetidas. Los perfiles son válidos para el cálculo de f_2 , de acuerdo a lo establecido en la NOM-177.

Con respecto a las disoluciones realizadas a diferentes pH se observan diferencias significativas para el pH de 8.5.

Se determinó las cinéticas de disolución siendo el modelo preponderante el de Weibull.

De acuerdo con el análisis de varianza factorial de las constantes de disolución indica que el pH es el único factor significativo.

El perfil de disolución de los genéricos se incrementa con el pH, como se puede observar en el siguiente gráfico.



CONCLUSIONES: Se determina que el pH es un factor que modifica el perfil de disolución y por lo tanto, el valor de f_2 .

La velocidad de agitación no provoca un efecto importante aún en la constante de disolución de Weibull

Las medidas repetidas es una buena alternativa para el cálculo de f_2 con un 80 % de coincidencia.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Soni, T.G. , Desai, J.U., Nagda, C.D., Gandhi, T. R., & Chotal N.P. (2008). Mathematical evaluation of similarity factor using varios weighing aproaches on aceclofenac marketed formulations by model-independent method . *Pharmazie*, 63(1), 31-34.
2. Palli, A., Ordean, G.C., Pomian, G. M. Rus, L.L., & Lovanov, R, I, (2020). A study on the influence of the dissolution test factors on in vitro reléase of ibuprofen form susatained reléase tablets. *Romanian Journal of Pharmaceutical Practice* , 13(2), 79-86
3. Ngwuluka, N.C., Lawal,K., Olorunfemi, P.O., y Ochekepe, N.A. (2009). Post-market in vitro bioequivalence study of six brands of ciprofloxacin tablets/caplets in Jos, Nigeria. *Scientific Research and Essays*, 4(4), 298-305.

HEXOSOMAS Y BIO-MOF COMO SISTEMAS CUTÁNEOS DE ENTREGA DE FÁRMACOS

Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda*

Participantes: Faustino-Vega, A¹; Águila-Rosas, J^{}; Santiago-Téllez, A²; Ramos-González, D³; Lima-Muñoz, E.J⁴; Leyva-Gómez, G⁵; Palma-Ramos, A⁶; Castrillón-Rivera, L.E⁶; Miranda-Calderón, J. E^{*}; Macín-Cabrera, S.A⁷; Romero-Ochoa, G.A^{3,8} y Gazga-Urioste, C^{3,9}*

**Proyecto: Modificaciones físicas de fármacos y desarrollo de medicamentos. Área de Tecnología Farmacéutica del Departamento de Sistemas Biológicos (DSB). División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, Campus Xochimilco. Ciudad de México. México. Correo electrónico: cquirino@correo.xoc.uam.mx*

¹Cátedra CONACYT, con adscripción al DSB-UAMX; ²Hospital 20 de noviembre del ISSSTE; ³Programa de Maestría en Ciencias Farmacéuticas-UAMX; ⁴Instituto de Ciencias de los Materiales, UNAM; ⁵Facultad de Química, UNAM; ⁶Área de Productos Biológicos-UAMX; ⁷Departamento de Atención a la Salud-UAMX; ⁸Laboratorios Medix, S.A.; ⁹Colgate-Palmolive México.

Palabras clave: Hexosomas; estructuras metal-orgánicas; cristales líquidos; MOF, resistencia antimicrobiana

El desarrollo de excipientes polifuncionales, entre ellos los biopolímeros y los de carácter lipídico, así como la aplicación de las nanociencias y de las nanotecnologías, junto con el desarrollo de diversas técnicas instrumentales cada vez más sensibles y precisas para la caracterización de las propiedades y el comportamiento físico, fisicoquímico y biológico de los materiales, ha modificado la perspectiva del desarrollo farmacéutico y de la medicina para prevenir, tratar y diagnosticar diversas enfermedades o patologías. Es en este contexto en el que la nanotecnología farmacéutica y la síntesis hidrotérmica pueden aportar nano y micro estructuras como una alternativa destinada a aumentar eficacia y seguridad de los medicamentos por reducción de dosis y direccionamiento del fármaco al sitio de acción; pudiendo contribuir, con los modelos desarrollados por nuestro grupo de investigación, a contrarrestar el incremento de la resistencia a los antimicrobianos; serio problema mundial para la salud.

En esta ponencia se presentan los resultados de varios años de investigación en trabajo colaborativo multiprofesional e interinstitucional sobre nano y micro estructuras con capacidad para el transporte de diversos fármacos, mostrándose el ejemplo de aquellas que contienen agentes antimicrobianos de aplicación cutánea; concretamente, se describirán los procesos de obtención y caracterización fisicoquímica de sistemas nanoestructurados líquido cristalinos denominados hexosomas, así como de microestructuras metal-orgánicas biocompatibles con alta porosidad conocidas como Bio-MOF. Ambos sistemas han sido

cargados respectivamente, con un antimicótico y un agente antibacteriano con el propósito de obtener un efecto local. Además de mostrar los resultados en propiedades físicas y fisicoquímicas, se presentan los resultados sobre el efecto antimicrobiano *in vitro* con cepas específicas y su potencial actividad a nivel cutáneo con un modelo de piel de oreja de cerdo.

Referencias:

1. Quirino-Barreda, C.T., Noguez-Méndez, N.A., Rivera-Becerril, E., Gazga-Urioste, C., Pérez-Hernández, G., Maldonado-Campos, J.F.J., Palma-Ramos, A., Castrillón-Rivera, L.E., Juárez-Sandoval, J.J., Santiago-Téllez, A., Faustino-Vega, A., Gutiérrez-Zamora, A.C., Macín-Cabrera, S.A., Rubio-Martínez, A., Ramírez-Palma, J.A. y Campos-Terán, J. Composición tópica con base en cristales líquidos liotrópicos. IMPI. No. Expediente: MX/a/2015/009845; Folio: MX/E/2015/054803. De fecha 30 de julio, 2015. MÉXICO. **TÍTULO:** 372244. Fecha de concesión: 6 de marzo, 2020. URL: <https://vidoc.impi.gob.mx/visor?d=MX/2020/26581>
2. Gazga-Urioste, C; Rivera-Becerril, E; Perez-Hernandez, G; Faustino-Vega, A; Noguez M. N. & Quirino-Barreda, C. (2018). Physicochemical characterization and thermal behavior of hexosomes containing ketoconazole as potential topical antifungal delivery system. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 45 (1):168-176. ISSN 2046-2069. DOI:10.1080/03639045.2018.1526188 <https://doi.org/10.1080/03639045.2018.1526188>
3. Águila-Rosas, J; **Quirino-Barreda, T**; Leyva-Gómez, G; González-Zamora, E; Ibarra I.A; Lima, E. (2020). Sulfadiazine hosted in MIL-53(AI) as a biocide topical delivery system. *RSC Advances*, 10:25645-25651. ISSN 2046-2069. DOI: 10.1039/d0ra03636f. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlepdf/2020/ra/d0ra03636f>
4. Piñón-Zárate G; Jarquín-Yáñez K; García-Gutiérrez P; Faustino-Vega A; Castell-Rodríguez AE; Macín-Cabrera, SA; **Quirino-Barreda CT**, y Miranda-Calderón JE. (2018). Caracterización *in vitro* de micropartículas de quitosano cargadas de vancomicina optimizadas mediante diseño de experimentos factorial. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 48 (4): 43-51. ISSN 1870-0195. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/579/57956617005.pdf>.

EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE MATERIALES PARA COMPRESIÓN DIRECTA: CLORHIDRATO DE METFORMINA, UN CASO PRÁCTICO

Oswaldo Castañeda Hernández¹, Isidoro Caraballo Rodríguez², María Josefa Bernad Bernad³, Luz María Melgoza Contreras^{4*}.

*Correo electrónico: lmelgoza@correo.xoc.uam.mx

¹Universidad Autónoma Metropolitana, Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, Coyoacán, Ciudad de México, México.

² Universidad de Sevilla, Facultad de Farmacia, Sevilla, España.

³Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Coyoacán, Ciudad de México, México.

⁴Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Sistemas Biológicos, Ciudad de México, México.

Palabras clave: Desempeño, Compresión directa, SeDeM, Compresibilidad, Compactabilidad

RESUMEN

La calidad por diseño aplicada al desarrollo de un fármaco exige metodologías científicas que representen una fuente de generación de conocimiento que permita una comprensión del proceso de producción y de los materiales utilizados. El sistema SeDeM es una herramienta de pre-formulación que toma en cuenta los atributos críticos de los materiales (principio activo, excipientes y fórmulas) para evaluar su adecuabilidad -o sus deficiencias a corregir- para ser usado en compresión directa y toma en cuenta la determinación de doce parámetros (once farmacopéicos y uno empírico) que permiten calcular los índices paramétrico, de perfil paramétrico y de la Buena Compresibilidad, permitiendo a su vez la obtención de un diagrama de polígono que representa un “patrón o huella dactilar” característico para cada material.¹ Si bien, usar el sistema SeDeM para caracterizar un material ayuda a seleccionar los materiales para hacer el desarrollo racional de un producto, el resultado no asegura que un material o mezcla evaluada tendrá éxito en términos de compresión, por lo tanto, es necesaria una mayor investigación sobre las propiedades de los materiales mediante la evaluación de sus propiedades mecánicas.

El objetivo del presente estudio fue evaluar y comparar dos grados técnicos de clorhidrato de metformina (cristalino y compresión directa) y evaluar su desempeño de acuerdo con el sistema SeDeM y los modelos de Heckel y Ryshkewitch-Duckworth para tener un mayor entendimiento del comportamiento de los materiales en un proceso de compresión directa. Con la evaluación se identificó que a pesar de tratarse de dos grados técnicos diferentes de un material, el desempeño es diferente; mientras que los valores e índices del sistema SeDeM

obtenidos tienen valores cercanos, los diagramas son muy diferentes (Figura 1). El modelo de Heckel muestra un comportamiento de densificación muy similar (Figura 2) y las principales diferencias en los materiales se observaron en la compresibilidad con el modelo de Ryshkewitch-Duckworth, en el que se obtuvo una resistencia mecánica 46 veces mayor en el material de compresión directa en comparación con el cristalino. El análisis de control estadístico reveló que sólo material de compresión directa podría utilizarse para elaborar tabletas cuya variación de peso siempre se mantuvo dentro de los límites de especificación y control.

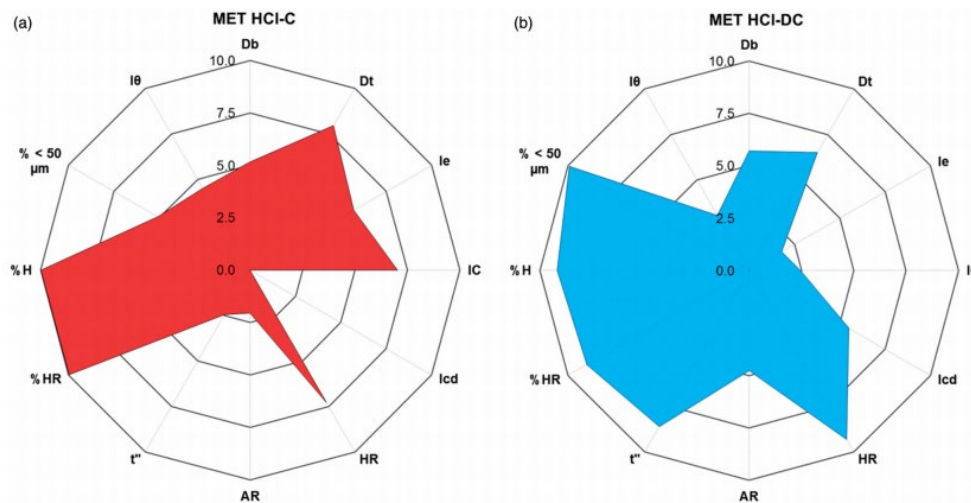


Figura 1. Diagramas SeDeM del Clorhidrato de metformina

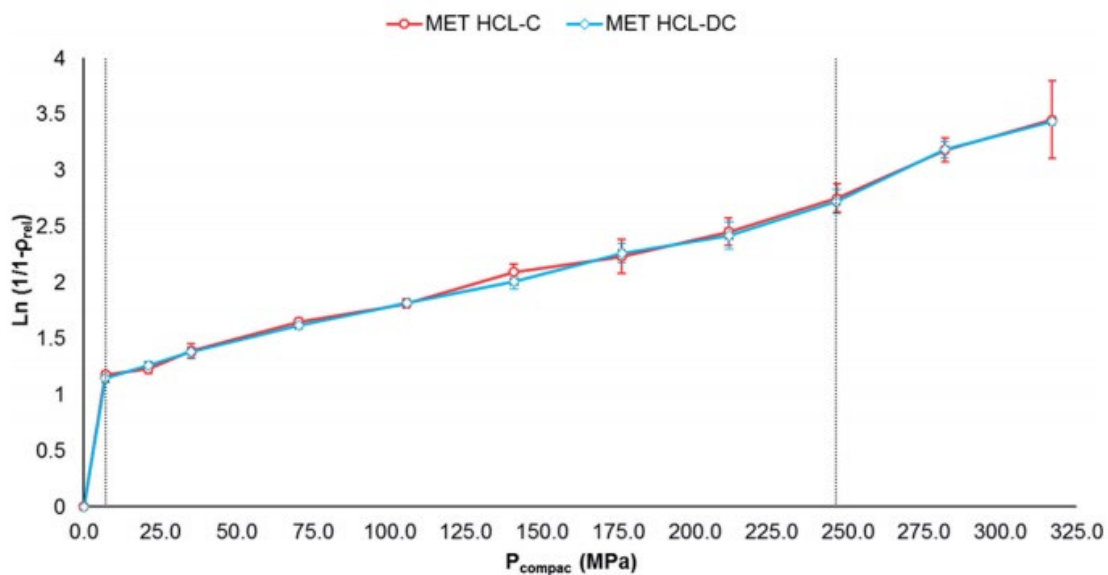


Figura 2. Gráficos de Heckel

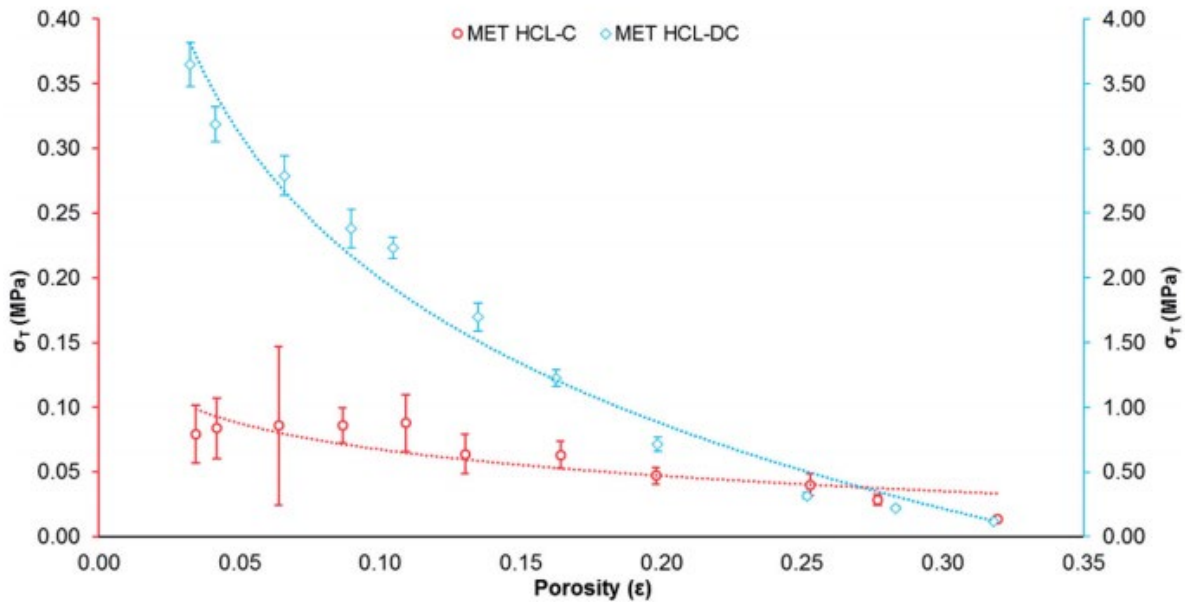


Figura 3. Gráficos de Ryshkewitch-Duckworth

BIBLIOGRAFÍA:

1. Suñe, J. M., Roig Carreras, M., García, R. F., et al., 2010. *Cienc. tecnol. Pharm.*, 15(3): 125-136.

Development of co-processed Paracetamol with Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) and Maltodextrin by wet granulation process

Leticia Ortega^{1,*}, Martín Gomez¹ & Daniela Rodriguez¹

¹Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco, Ciudad de México. México

*Corresponding autor, Correo electrónico: lorteгаа@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Paracetamol, HPMC, Maltodextrina, granulación.

INTRODUCCIÓN:

El Paracetamol es un fármaco analgésico y antipirético ampliamente utilizado por la población mexicana para el control de dolor leve o moderado. Se sabe que el efecto farmacológico depende de las características fisicoquímicas del principio activo y una de las más importantes es la solubilidad; en la FEUM (Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos) especifica que el Paracetamol es fácilmente soluble en alcohol y metanol; soluble en acetona, agua caliente y en solución de hidróxido de sodio 1 N; casi insoluble en cloroformo y éter dietílico⁶.

Para lograr una mejor biodisponibilidad se tiene el interés en mejorar la solubilidad en agua a temperatura ambiente y a temperatura de 37 grados Celsius. El objetivo en este trabajo fue hacer granulados mediante el método de granulación húmeda.

Las características del soluto que condicionan la solubilidad son el tamaño y la forma de la partícula, el estado amorfo o cristalino, el polimorfismo, la densidad, la temperatura de fusión (punto de fusión) y el grado de porosidad entre otras propiedades de la fase sólida. Así también, la solubilidad se encuentra condicionada por el disolvente y su capacidad de humectación, en particular es relevante la tensión superficial del agua actuando sobre el soluto⁹.

La solubilidad de los fármacos es uno de los factores considerados en los estudios de pre-formulación de formas farmacéuticas, ya que dependiendo del valor de solubilidad en agua se determinará si es factible formular productos farmacéuticos como comprimidos, cápsulas, suspensiones u otro tipo de forma farmacéutica⁹.

Todos los principios activos farmacéuticos (API's), independientemente de la vía por la cual se administren, deben ser al menos ligeramente solubles en agua para que puedan tener

eficacia terapéutica, partiendo del principio de que el fármaco debe ser soluble en los líquidos presentes en el lugar donde ocurre la absorción⁷.

Existen en la actualidad numerosas estrategias dirigidas a modificar la solubilidad de los principios activos utilizados en la fabricación de medicamentos, que no exigen cambios en la estructura química pero que pueden modificar su biodisponibilidad.⁴

Existen diferentes artículos donde se busca mejorar la solubilidad del Paracetamol, Salima Varona y colaboradores utilizan diferentes mezclas de excipientes como PVP y CO₂ utilizando equipos de alta presión con el objetivo de incrementar la solubilidad.¹²

Tomando en cuenta que la solubilidad del Paracetamol es una de las propiedades más importantes realizan experimentos mezclando diferentes concentraciones de solventes como etanol, acetona, y tolueno¹³

Otra de las ventajas que se puede obtener de la granulación de los API es la modificación del sabor. El sabor siempre ha sido una característica crítica para el desarrollo de formas farmacéuticas líquidas. Sin embargo, actualmente, debido a la expansión de formas farmacéuticas sólidas de disgregación previa a la administración o en la boca, el sabor se ha convertido en un parámetro crítico también en las formas sólidas. No sólo se trata de enmascarar un sabor desagradable, sino que además se debe de aportar a la formulación un sabor agradable que aumente la aceptación del paciente⁵.

En esta investigación se desarrolló el proceso de funcionalización del principio activo, que representa la modificación de la estructura física de las partículas del Paracetamol mediante la introducción de materias primas que sean compatibles con él y sean capaces de mejorar las propiedades fisicoquímicas de interés. Se propone que al disminuir el tamaño de partícula y al dispersar el Paracetamol en otro excipiente para favorecer la solubilidad, así también la estrategia de la granulación por vía húmeda ayudará a mejorar el sabor del paracetamol contenido en una forma farmacéutica. La granulación se realiza mezclando Paracetamol con HPMC (Hidroxipropilmetilcelulosa) y Maltodextrina.

OBJETIVO: Desarrollar un coprocesado de Paracetamol con HPMC con maltodextrina para mejorar la solubilidad de este.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Paracetamol (acetaminofén) Lote Y152381, Maltodextrina de Makymat Lote AR1187, HPMC (Hidroxipropilmetil celulosa) Lote 6075665, azúcar. Reactivos: Ácido clorhídrico,

Lote 9535-02, Yodo Lote M-32476, Hidróxido de sodio Lote 40254, Ácido nítrico Lote 9621-02, Nitrato de plata, Metanol Lote 9070-03, Equipos: Tamices de 1.41 mm y 0.297 mm, balanza analítica SHIMADZU, balanza granataria, estufa de laboratorios BG, pH-metro (potenciómetro) 320 Corning, flujómetro, termobalanza OHAUS, mezclador, densitómetro, UV-vis Perkin Elmer.

RESULTADOS:

Se proponen 7 diferentes granulados, con la composición obtenida a partir de los resultados de un trabajo anterior enfocado en la elaboración de granulados (Tabla 1). Esta tabla nos muestra las cantidades determinadas de las materias primas para obtener 50 g de cada granulado aproximadamente, la elaboración de los diferentes lotes de granulados fue en orden aleatorio.

Tabla 1. Contenido de excipientes y para la elaboración de los granulados

Granulado	Paracetamol		HPMC		Maltodextrina	
	%	g	%	g	%	g
A	50	25	2.5	1.25	47.5	23.75
B	50	25	2.0	1	48	24
C	50	25	1.5	0.75	48.5	24.25
D	50	25	1	0.5	49	24.5
E	50	25	0.5	0.25	49.5	24.75
F	50	25	3.0	1.5	47	23.5
G	50	25	3.5	1.75	46.5	23.25

Las pruebas fisicoquímicas evaluadas a las materias primas y a los granulados fabricados fueron densidad aparente y compactada, ensayos de identidad, velocidad de flujo y ángulo de reposo.

Proceso de granulación (por cada granulado se hizo un duplicado de la misma formulación)

1. Se pesan las materias primas (Paracetamol, HPMC y Maltodextrina) en la balanza analítica
2. Ya pesadas las materias primas se van colocando en el mezclador, se cierra adecuadamente el mezclador, se ponen a mezclar las materias primas durante 5 mins a 30 rpm

3. Terminado el tiempo de mezclado, el polvo se coloca en una charola sin esparcir por esta, se mantiene en forma de montaña.
4. Se empieza a humectar el polvo con la ayuda de un atomizador que contiene agua destilada, esta manera de agregar nos ayuda a que sea más homogénea la distribución del agua
5. Para saber si la humectación del polvo es adecuada se toma un poco y cerrando la mano ejercemos una presión, al abrir la mano tenemos que observar si el polvo humectado se rompe o se mantiene una especie de masa moldeada, de no ser así seguir humectando.
6. Si se mantiene es que ya cuenta con una buena humectación, se registra la cantidad de agua utilizada y se pasa por un tamiz con una malla de 1.41 mm, lo que nos dará un tamaño de partícula determinado
7. Cuando se obtiene el granulado, se esparce un poco por la charola y se coloca la charola en la estufa, en la cual se mantendrá una temperatura de 60 °C
8. Cuando se tenga la temperatura de 60 °C se deja por 2 horas el granulado en la estufa
9. Pasado el tiempo se toma el porcentaje de humedad en la Termobalanza. El porcentaje de humedad a obtener es de 1 a 1.5 %. Si no se tiene la humedad esperada se ingresa nuevamente el granulado a la estufa, todo esto dependerá de la humedad obtenida.
10. Pasar por un tamiz con una de malla de 0.297 mm, al término de este paso, el polvo se guardará en una bolsa previamente etiquetada.

CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos demuestran que el método de granulación por vía húmeda, es un método efectivo para obtener un semi terminado de Paracetamol con los excipientes HPMC y maltodextrina que mejora una de las propiedades fisicoquímicas más importante, para la formulación de medicamentos como es la disolución del Paracetamol en agua.

Una mejora en la solubilidad del paracetamol es importante a nivel industrial ya que permitirá un menor contenido de paracetamol en la formulación, con un costo menor del producto como consecuencia.

Se consiguió lograr enmascarar el sabor amargo del principio activo presente en medicamento, en este proyecto se evaluó el sabor en un jarabe simple demostrando que se mejora el gusto para la gente, estos resultados pueden mejorar al utilizar una formulación más estructurada.

Se requiere realizar más experimentos y nuevas formas farmacéuticas que confirmen o mejoren los resultados obtenidos para el paracetamol.

BIBLIOGRAFÍA:

1. López, O. M. (2006). Influencia del uso de aditivos sobre el rendimiento del proceso de secado por aspersión de extracto acuoso de *Calendula officinalis* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*.
2. acofarma. (n.d.). *Fichas de información técnica. Maltodextrina*. Retrieved 29 de Marzo de 2018 from <http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/6596-65aa65d75536417fb925977904912902b92d2316/main/files/Maltodextrina.pdf>
3. acofarma. (n.d.). *Hidroxiopropil Metil Celulosa*. Retrieved 31 de agosto de 2017 from http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/4373-47a1ee7b1d50cddacc89770a35df329dd1da0fdc/main/files/Hidroxiopropil_metil_celulosa.pdf
4. Domínguez-Gil, A. M. (2011). *Real Academia Nacional de Farmacia; Avances en tecnología farmacéutica*. Retrieved 29 de Marzo de 2018 from <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/view/532/550>
5. Espada García, J. I. (2015). Enmascaramiento de sabores en formas farmacéuticas sólidas orales. *Anales de la real academia de farmacia* (1697-4298), 116- 128.
6. FEUM, F. d. (2014). *Paracetamol* (11va ed., Vol. 1). de México: Secretaria de salud.
7. Herazo, E. A. (2012). *Estudio fisicoquímico de la solubilidad de acetaminofeno en mezclas polietilenglicol 400 + agua*. Tesis, Bogotá.
8. IPEC, T. I. (2006). *The Join IPEC- PQG Good Manufacturing Practices Guide for pharmaceutical excipients*.
9. Isabel González Álvarez, M. Á. (2015). *Metodologías biofarmacéuticas en el desarrollo de medicamentos* (08-06-15 ed.). Universidad Miguel Hernández de Elche.
10. Minakshi Marwaha, D. S. (2010). Coprocessing Of Excipients: A Review On Excipient Development For Improved Tableting Performance. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 2 (3), 41-47.
11. Villafuerte, L. (2011). Los excipientes y su funcionalidad en productos farmacéuticos sólidos. *Scielo*, 42 (1), 18-36.
12. Salima V. et col (2013). Solubility of Paracetamol and Polyvinylpyrrolidone in Mixtures of Carbon Dioxide, Ethanol, and Acetone at Elevated Pressures. *American Chemical Society*. 58, 1054-1061.
13. Feelly R, et col (2009). Modeling the Solubility of Pharmaceuticals in Pure Solvents and Solvent Mixtures for Drug Process Design. Wiley InterScience. DOI 10.1002/jps.21725.
14. Afrasiabi H., et col. (2003). Polyvinylpyrrolidone and Investigation of the Mechanisms Involved. 10.1081/DDC-120016725
15. Chiappetta, et col. (2004). Enmascaramiento de Sabor de Paracetamol Utilizando Microencapsulación. *Acta Farm. Bonaerense* 23(3): 292-6.

MATRICES HIDROFÍLICAS PARA LIBERACIÓN PROLONGADA DE METFORMINA

Dra. Liliana Schifter Aceves

Área de Tecnología Farmacéutica del Departamento de Sistemas Biológicos. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Ciudad de México. México.

RESUMEN

Introducción: La diabetes mellitus es un desorden metabólico con alta incidencia a nivel mundial, sin embargo, el tratamiento con tabletas de liberación convencional conlleva la presencia de efectos adversos, así como dosis altas y repetidas. Las formas farmacéuticas de liberación modificada mejoran el desempeño de los fármacos y el apego a la terapia por parte de los pacientes, por eso son una alternativa útil en el tratamiento de la diabetes.

Objetivo: Fabricar y evaluar matrices hidrofílicas de clorhidrato de metformina empleando proporciones bajas de HPMC con alta viscosidad, para la obtención de comprimidos, que cumplan con los criterios de liberación prolongada de la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP).

Métodos: Se fabricaron comprimidos mediante granulación vía húmeda y se caracterizaron mediante diversas pruebas farmacopeicas incluyendo estudios de liberación in vitro, con lo que se estudió el mecanismo de liberación mediante el ajuste a modelos matemáticos de Higuchi, Korsmeyer-Peppas y Hixson-Crowell.

Resultados: La formulación F2 cumplió con las pruebas de calidad farmacopeicas y cumplió con los criterios de aceptación para liberación prolongada USP, mediante difusión tipo Fick.

Conclusiones: Se obtuvieron matrices hidrofílicas para liberación modificada de Metformina, empleando proporciones bajas de HPMC como posible plataforma para nuevas formulaciones en el tratamiento de la diabetes.

INCREMENTO DE LA SOLUBILIDAD Y PERMEACIÓN DE
PRAZIQUANTEL MEDIANTE EL USO SEDDS

Jorge E. Miranda Calderón^{*1}, Lucía Rojas González¹, Oscar Santiago Villarreal², María Josefa Bernad Bernad².

¹Área de Tecnología Farmacéutica del Departamento de Sistemas Biológicos. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Ciudad de México. México.

²Facultad de Química, UNAM

*Correo electrónico: jmiranda@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Solubilidad, SEDDS, Praziquantel

RESUMEN

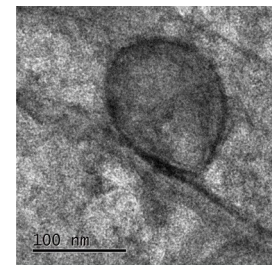
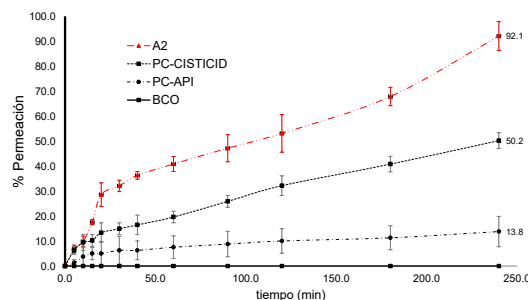
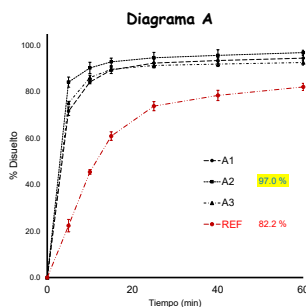
Introducción: La administración de medicamentos orales representa la alternativa más utilizada para el tratamiento de diferentes afecciones en el ser humano dada su aceptación por parte de los pacientes, sin embargo, más del 50% de los compuestos farmacéuticos activos presentan problemas de solubilidad en sistemas acuosos¹. Fármacos como el Praziquantel un agente antihelmíntico con actividad contra un amplio espectro de trematodos y cestodos que se usa predominantemente en la terapia de la esquistosomiasis y la cisticercosis, presenta problemas ya que después de la administración oral se obtiene una solubilidad acuosa muy baja, resultando en una biodisponibilidad oral deficiente. Los sistemas de administración de fármacos autoemulsionantes (SEDDS) son mezclas isotrópicas de fármaco, lípidos, surfactantes y cosurfactantes. Estos sistemas se dispersan espontáneamente en fluidos gastrointestinales bajo agitación suave, formando estructuras micro y nanométricas que conforman el medicamento². Los SEDDS poseen un gran potencial para mejorar la biodisponibilidad oral de medicamentos poco solubles en agua³. En comparación con otros sistemas nanotransportadores como nanopartículas, liposomas, dispersiones sólidas y niosomas, el proceso de fabricación y ampliación de SEDDS es más simple y rentable. La escasa solubilidad acuosa de la mayoría de los fármacos actualmente en el mercado y en etapa de desarrollo representan un reto para la formulación e incorporación en formas farmacéuticas sólidas orales. El praziquantel es un fármaco de primera elección para el tratamiento de la neurocisticercosis, sin embargo, es de baja solubilidad acuosa de acuerdo con el sistema de clasificación biofarmacéutica, por lo que es

necesario aplicar una estrategia de incremento de solubilidad para favorecer su disolución y absorción.

Objetivo: El objetivo de este trabajo fue desarrollar y caracterizar una formulación que permita aumentar la solubilidad acuosa del Praziquantel (PZQ) mediante la incorporación en un SEDDS, favoreciendo su disolución y absorción con el fin de mejorar el desempeño de la formulación respecto al producto de referencia Cisticid® 600 mg.

Métodos: Para la formulación del SEDDS primero se determinó la solubilidad al equilibrio en diferentes vehículos (aceites, surfactantes y co-surfactantes) para seleccionar los componentes que permitan aumentar la solubilidad del principio activo. Con los excipientes seleccionados se construyeron 4 diagramas de fase ternarios, mapeando una zona de trabajo con proporciones de aceite de 5-45%, surfactante de 50-90% y co surfactante de 5-45%, para identificar la zona de auto-emulsificación. Los sistemas fueron caracterizados por medio de tiempos de auto-emulsificación, tamaños de partícula, potencial zeta, perfiles de disolución y los estudios de permeación. La microscopía electrónica de barrido y de transmisión se realizó a las mezclas con los mejores resultados de caracterización, mostrando glóbulos esféricos con un tamaño promedio de 100 nm.

Resultados: Las formulaciones incrementaron la solubilidad del PZQ hasta 156 veces comparadas con el agua, se obtuvieron tamaños de partícula de 50 a 338 nm y potenciales zeta de -1.4 a -32.2 mV, con tiempos de auto-emulsificación inferiores a 60 segundos. La microscopía electrónica de barrido muestra que durante el proceso de dispersión de la fase lipídica hay una disminución del tamaño de partícula respecto a la materia prima inicial y con la microscopía electrónica de transmisión (TEM) muestran que el sistema desarrollado tiene una morfología globular.



Conclusiones: Los resultados obtenidos respecto a las pruebas de disolución in vitro y permeabilidad ex vivo demuestran que los sistemas SEDDS desarrollados con PZQ presentan una mejoría en el desempeño respecto al producto de referencia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Seo, Y. G., Kim, D. W., Yousaf, A. M., Park, J. H., Chang, P. S., Baek, H. H., ... & Choi, H. G. (2015). Solid self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) for enhanced oral bioavailability of poorly water-soluble tacrolimus: physicochemical characterisation and pharmacokinetics. *Journal of microencapsulation*, 32(5), 503-510.
2. Singh, B., Bandopadhyay, S., Kapil, R., Singh, R., Katare, O.P., 2009. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS): formulation development, characterization, and applications. *Crit. Rev. Therap. Drug Carrier Syst.* 26, 427–521.
3. Sharma, S., Narang, J.K., Ali, J., Baboota, S., 2016. Synergistic antioxidant action of vitamin E and rutin SNEDDS in ameliorating oxidative stress in a Parkinson's disease model. *Nanotechnology* 27, 1–20.

NANOEMULSIONES DE ÁCIDO OLEICO/POLISORBATO 80 CON BAJA TOXICIDAD EN LA LÍNEA CELULAR NL-20: COMO POSIBLES PORTADORES DE FÁRMACOS

Dra. María Luisa de Lourdes Pérez González

Área de Tecnología Farmacéutica del Departamento de Sistemas Biológicos. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Ciudad de México. México.

RESUMEN

Las nanoemulsiones (NE) son en la actualidad nanoportadores de fármacos necesarios. Hemos seleccionado i) ácido oleico (OA) como aceite (O), ii) polisorbato 80 (PS₈₀) como tensioactivo (S), y iii) agua (W) en un prototipo NE. Nuestra mejor formulación tenía una relación O:S [OA]/[PS₈₀] = 0,0708/0,0382 = 1,85 [mol·L⁻¹], lo que implica 1,85 partes de OA cubiertas/estabilizadas por 1 parte de PS₈₀, dando 71.86 nm y un índice de polidispersidad de 0.42 (PDI) en NE, determinado por DLS y TEM. Estos nanosistemas almacenados a temperatura ambiente/oscuridad se estabilizaron hasta 12 meses (medido por DLS y TEM) manteniendo tamaños de partículas muy similares y, en ocasiones, disminuyendo el PDI. La estabilidad del NE se determinó por DSC, evidenciándose reversibilidad al calentar de 25 a 100 °C, aumentando a 125 °C (sistemas sellados) produjo perfiles de calentamiento más atenuados en el segundo y tercer ciclo, en comparación con el primero, indicando parcial pero suficiente estabilidad para los medios de almacenamiento. Las pruebas de citotoxicidad de NE se realizaron en células epiteliales de pulmón normales inmortalizadas (NL-20), como referencia. Los resultados muestran concentraciones inhibitoras del 50 % (IC₅₀, μM) de 1100, OA y 2.6, PS₈₀. El IC₅₀ fue 20.5, PS₈₀ (PS₈₀@NE) y 37.9, OA (OA@NE), lo que indica claramente que los componentes cambiaron sus toxicidades tras la nanoestructuración, OA mostró un aumento de 30 veces (IC₅₀(OA) 1100.0→37.9) mientras que PS₈₀ disminuyó 7,9 veces (IC₅₀(PS₈₀) 2.6→20.5). PS₈₀ es el componente más tóxico, pero cuando se incluye en PS₈₀@NE, se generaron nanoportadores menos tóxicos.

CARGA ECONÓMICA DEL INSOMNIO COMÓRBIDO A DEPRESIÓN Y
ANSIEDAD

Juan Manuel Martínez-Núñez¹, Gustavo Ivan Torres-Granados¹, Francisco López-Naranjo¹, Karina Sánchez Herrera¹, Rafael Santana-Miranda², Andrés Barrera-Medina², Ulises Jiménez-Correa^{2,3}, León Rosenthal⁴

¹ Department of Biological Systems, Universidad Autónoma Metropolitana, Campus Xochimilco, Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, 04960 Coyoacán, Mexico City, Mexico

² Clinic of Sleep Disorders, Research Division, School of Medicine, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Mexico City, Mexico

³ Postgraduate Program in Behavioral Neuroscience, Psychology Faculty, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Mexico City, Mexico

⁴ Sleep Medicine Associates, Dallas, TX, USA

RESUMEN

Antecedentes: Se han logrado avances significativos que documentan los costos asociados con el insomnio. Sin embargo, los relacionados con el insomnio asociado con los trastornos del estado de ánimo siguen estando poco estudiados, incluso cuando se ha demostrado que el insomnio es más grave en presencia de condiciones comórbidas como la depresión y la ansiedad.

Objetivo: Determinar los costos directos e indirectos del insomnio asociado a los trastornos de depresión y ansiedad (TDA) desde la perspectiva del paciente en un sistema sanitario privado.

Métodos: Este fue un estudio observacional de insomnio crónico asociado con TDA en una Clínica privada de Trastornos del Sueño en la Ciudad de México entre 2019 y 2020. Los pacientes fueron seguidos por un año. Los datos de utilización de los recursos sanitarios se recogieron a través de la historia clínica del paciente. Los costos directos e indirectos asociados con el tratamiento del insomnio se estimaron a través de microcosteo. La carga económica estimada se proyectó a 5 años ajustando por inflación y por descuento de costos futuros. Se realizó un análisis de sensibilidad determinista.

Resultados: El costo medio del primer año de tratamiento del insomnio asociado a TDA fue de US\$3537,57 por paciente. La pérdida de productividad del trabajo representó la carga económica más alta (63,84%), seguida de los costos médicos directos (28,32%) y los costos no médicos directos (7,85%). La carga económica anual estimada para los pacientes atendidos en el sistema privado de salud en México fue de US\$293 millones.

Conclusión: Se encontró que los costos del insomnio asociado con TDA en una clínica privada en México fueron altos. La carga de los costos que enfrentan estos pacientes es sustancial en relación con el ingreso medio de la población. Los costos económicos a nivel individual y social son sustanciales.

ELABORACIÓN DE AGLOMERADOS A BASE DE CÁSCARA DE CACAHUATE CON CASCARILLA DE COCO PARA USOS MÚLTIPLES

Diana Paola Rosales Gutiérrez[†] Frida Ruiz López[†] José Sánchez Enríquez[†].

[†]Adscripción de cada autor: Universidad Mexiquense del Bicentenario Unidad Tultitlán

**Autor de correspondencia: José Sánchez Enríquez*

Correo: profe_sanchezuest@hotmail.com

***Palabras clave:** Aglomerado, cáscara de coco, cáscara de cacahuete*

INTRODUCCIÓN:

El presente proyecto “elaboración de aglomerados a base de cáscara de cacahuete con cascarilla de coco para usos múltiples”, tiene como objetivo presentar el proceso de elaboración de un aglomerado a base de residuos lignocelulósicos de cacahuete y coco, la unión de dichos residuos es mediante ligantes naturales. Se plantean 3 muestras distintas con variación en la porción de cáscara de coco y cascarilla de coco, utilizando como ligante al poliestireno expandido disuelto en unas mezclas de acetona y acetato de etilo. Se realizarán pruebas de resistencia mecánica, aplastamiento y absorción de agua, comparando los resultados obtenidos con materiales análogos como el MDS y macopan. El material elaborado recibe el nombre de CASCACOCOHUATE y se presenta como una alternativa de material para usos múltiples en la construcción, elaboración de muebles, entre otros.

Durante años, tanto en México como en el mundo entero la deforestación legal y la tala clandestina son realizadas por el ser humano para satisfacer necesidades. En México las estimaciones de deforestación obtenidas con distintos métodos y periodos han mostrado fuertes variaciones. Las estimaciones oficiales más recientes, corresponden a los Informes Nacionales de la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT], 2015)

La principal preocupación en torno a la deforestación tiene que ver con la pérdida de la biodiversidad y de los servicios ambientales que brindan los bosques y las selvas, y en las últimas décadas a la influencia de esa pérdida en el calentamiento global. Las masas forestales proporcionan servicios como la formación y conservación de los suelos. (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT], 2015)

Por otro lado, La Asociación Nacional de Industrias del Plástico (ANIPAC) y la Asociación Nacional de la Industria Química (ANIQ), estiman que el consumo nacional del unicel en México es de 125 mil toneladas anuales (Fundación UNAM, 2019). Su impacto no reside en el ambiente como tal, la verdadera problemática es su lenta degradación, el incorrecto manejo y disposición final; estudios demuestran que la producción y su acumulación de este residuo van en incremento. Durante 2015, en México se produjeron poco más de 96 mil toneladas de cacahuete, cosechadas en 59 mil hectáreas, siendo los estados de Sinaloa, Chihuahua y Chiapas los principales productores, con un aporte de más del 58 % de la producción nacional (2000 Agro, 2016).

En México, el estado de Guerrero es el principal productor de palma de coco, aportando a la producción nacional el 80% con un volumen de 178.2 mil toneladas, le siguen Colima, Tabasco, Oaxaca y Michoacán, entre estos cinco estados se concentra el 98% de la producción (Gaceta del Senado, 2019). Por la vasta producción de ambos desechos y el gasto para deshacerse de ellos es el motivo conveniente de su reutilización.

OBJETIVO (S):

Fabricar un material resistente constituido por fragmentos de cáscara de cacahuate y cascarilla de coco, empleando poliestireno expandido (previamente tratado con una solución de acetona y acetato de etilo) como un ligante, para usos múltiples.

Objetivos específicos

Analizar eficiencia del unicel como ligante (tratado con una solución solvente).

- Elaborar los aglomerados con distintos porcentajes de cáscara de cacahuate y cascarilla de coco.
- Realizar pruebas físicas (resistencia, densidad y absorción de agua) al aglomerado elaborado.
- Elegir el aglomerado que proyecte mejores resultados, comprobar y comparar su eficacia respecto a un aglomerado comercial de macopan y MDS.
- Comprobar su eficacia como material aglomerado en la elaboración plafones y muebles.

MATERIALES Y MÉTODOS:

- 1.- Recolección de cáscara de cacahuate y cascarilla de coco
- 2.- Limpieza de los materiales recolectados
- 3.- Secado de los materiales
- 4.- Molienda de la cáscara de cacahuate y cascarilla de coco
5. Tamizado de los materiales molidos por malla 25 y 50



6. Elaboración de aglomerados de cáscara de cacahuete y cascarilla de coco en distintos porcentajes, utilizando un ligante amigable con el medio ambiente

- Aglomerado 25% de cascarilla de coco.

7. Se pesa 12.5g de cascarilla de coco (25% de cascarilla de coco), 37.5 g de cáscara de. En los tres casos se mezcla hasta homogenizar.



- Aglomerado 50 % de cascarilla de coco.

9. Se procede de igual forma pero ahora utilizando 25.0 g de cascarilla de coco (50 % de cascarilla de coco), 25.0 g de cáscara de cacahuete (50 % de cascarilla de cacahuete).



- Aglomerado 75% de cascarilla de coco

10. Se procede análogamente pero ahora con 37.5 g de cascarilla de coco (75% de cascarilla de coco), 12.5 g de cáscara de cacahuete (75% de cascarilla de cacahuete)



11.- Moldear las mezclas de las tres diferentes proporciones elaboradas (25 %, 50% y 75 % de cascarilla de coco) en forma redonda y poner a secar a 80° C por 24 horas en estufa de secado.

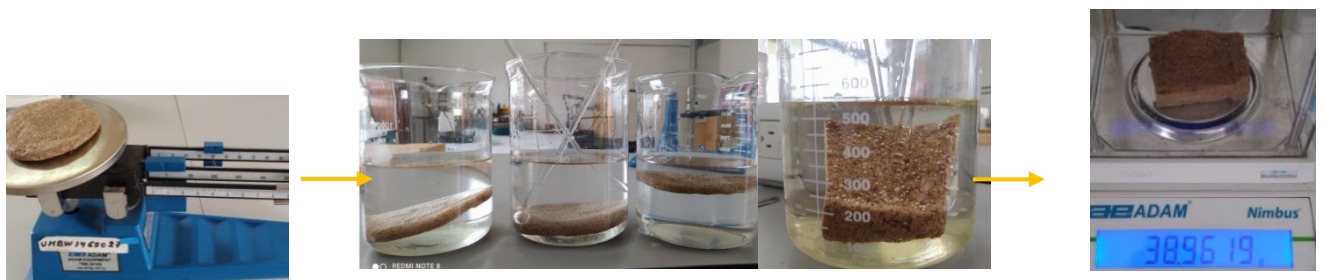


12.- Realizar pruebas físicas como dureza, densidad y retención de líquido a cada una de las muestras elaboradas.

- Dureza: Medición con durómetro
- Densidad: Medición por el principio de Arquímedes con un vaso de precipitado.

Absorción de agua

- 1) Pesar cada uno de los aglomerados.
- 2) Colocar en un vaso de precipitado de 250 ml, cien ml de agua destilada.
- 3) Colocar cada aglomerado en el vaso de precipitado anterior y dejarlo reposar por dos horas.
- 4) Transcurrido el tiempo, extraer las muestras de los vasos, escurrirlas perfectamente y dejar al aire por 5 minutos, volver a pesar las muestras y anotar el valor.
- 5) Calcular el porcentaje de líquido retenido.



13. Seleccionar el aglomerado que registre los mejores resultados para la elaboración de paneles para poder elaborar un prototipo de librero moderno.

RESULTADOS:

Se elaboraron aglomerados a base de cascara de cacahuete y cascarilla de coco en diferentes proporciones y se puede observar en las imágenes, el tono se oscurece dependiendo de la cantidad de coco que contenga.

Al aplicar las pruebas a cada muestra se obtuvieron los siguientes resultados:

Se muestra los porcentajes de cáscara de cacahuete y cascarilla de coco que tiene cada una de los aglomerados elaborados y los resultados de pruebas físicas como densidad y porcentaje de agua absorbida. Cabe señalar que la sensación al tacto de la dureza de los aglomerados es mayor para la mezcla del 75% de cascarilla de coco y 25% cascarilla de cacahuete.

Al comparar las densidades de las 4 muestras sobre sale la muestra 2 como la más

N°	% Cacahuete	% Coco	Densidad (g/cm ³)	Absorción de agua (%) 2hrs	Resistencia (kN)	Inflamable
1	100	0	0.6764	16.66	27.7109	No
2	75	25	0.9911	2.45	27.2578	No
3	50	50	1.1961	1.99	28.2750	No
4	25	75	0.8994	3.87	28.3672	No

alta (50% coco, 50% cacahuete) con un 1.1961g/cm³. Mientras que la menos densa es la muestra 4 (100% cacahuete) con 0.6764g/cm³

Finalmente, al realizar las pruebas de combustión como resultado solo presentaron una coloración oscura en la zona expuesta al fuego, es decir, no son inflamables. Esto se muestra en la siguiente figura.



CONCLUSIONES:

Con los resultados obtenidos hasta el momento si podemos decir que los porcentajes más favorables para la elaboración de los aglomerados serian de un 75% cáscara de cacahuete y 25% cáscara de coco, ya que esta muestra presenta un bajo porcentaje de absorción de agua de manera que si elaboran muebles con este aglomerado serán muy resistentes al agua ofreciendo una ventaja sobre el macopan o MDF

BIBLIOGRAFÍA:

1.-UNAM, F. (2019, 15 agosto). En México, el consumo nacional de unicel es de 125 mil toneladas anuales. Recuperado 20 de abril de 2021, de <https://www.fundacionunam.org.mx/unam-al-dia/en-mexico-el-consumo-nacional-de-unicel-es-de-125-mil-toneladas-anuales/#:%7E:text=En%20M%C3%A9xico%20el%20consumo%20nacional,de%201>

25%20mil%20toneladas%20anuales&text=Con%20el%20desarrollo%20de%20un,expandido%20C%20com%20C3%20BAnmente%20conocido%20como%20unicel.

2.-Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales SEMARNAT. (2015, Enero). Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. (2015). Impresos Santiago S. A. de C. V. Recuperado de https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe15/tema/pdf/Informe15_completo.pdf

3.-Gaceta del Senado. (2019, 5 marzo). Senado de la Republica. Recuperado 21 de abril de 2021, de https://www.senado.gob.mx/64/gaceta_del_senado/documento/90324#:~:text=El%20estado%20de%20Guerrero%20es,el%2098%25%20de%20la%20producci%C3%B3n.

4.-Legorreta, R. (2016, 6 enero). 5 razones para no usar el unicel. Recuperado 2 de mayo de 2021, de <https://www.salud180.com/salud-dia-dia/5-razones-para-no-usar-el-unicel>

5.- Agro, C. I. P. E. (s. f.). México en top 10 de productores de coco: retos y oportunidades. Recuperado 2 de mayo de 2021, de https://smattcom.com/blog/mexico-top-10-productores-coco-retos-oportunidades?utm_source=facebook&utm_medium=Nota_del_dia&utm_campaign=Nota_del_dia&utm_term=Nota_del_dia&utm_content=Nota_del_dia_coco

6.-Mx, B. (2019, 23 mayo). ¿Cuáles son los efectos que causa el unicel en el medio ambiente? Recuperado 2 de mayo de 2021, de <https://www.bonaf.com.mx/blogs/biodegradables/cuales-son-los-efectos-que-cause-el-unicel-en-el-medio-ambiente>

7.-Eligio Esquívez González* 27 de diciembre de 2011, 16:07, Horas, H. A. P., & MaríaNaveja, J. (2017, 3 octubre). El cacahuete. Recuperado 1 de mayo de 2021, de <https://www.eleconomista.com.mx/opinion/El-cacahuete-20111227-0003.html>

8.-Alma Gómez, A. G. (2019, 18 septiembre). Universitario impulsa la utilización del 100% del coco. Recuperado 2 de mayo de 2021, de <https://www.eluniversalqueretaro.mx/tierra-de-emprendedores/universitario-impulsa-la-utilizacion-del-100-del-coco>

Ejes Temáticos

Aseguramiento de la Calidad (AC)

Carteles

EVALUACIÓN DEL CUMPLIMIENTO DEL NUMERAL 8 DE LA NOM-059-SSA-2015 “BUENAS PRÁCTICAS DE FABRICACIÓN DE MEDICAMENTOS”, EN LA PLANTA PILOTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD XOCHIMILCO, MEDIANTE LA VISITA DE VERIFICACIÓN SOLICITADA A COFEPRIS.

Miguel Angel Vázquez Toledo¹, Diana Idalid Espinosa Arizaga², Luz Rebeca Calzadilla Marín³, Viridiana Xicotencatl Torres⁴, José Miguel Galindo Sedano^{5,*}. Jorge Esteban Miranda Calderón

^{1,2,3,4,5} Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

*Autor de correspondencia

Correo: 2183073030@alumnos.xoc.uam.mx

Palabras clave: COFEPRIS, riesgo sanitario, visita de verificación, auditoría, Planta Piloto.

INTRODUCCIÓN:

La principal función de la industria farmacéutica es poner a disposición del público productos de calidad que cumplan con las especificaciones que marca la regulación. La COFEPRIS es la encargada del cumplimiento normativo, mitiga riesgos sanitarios producidos de cualquier exposición a factores físicos, biológicos y químicos en la fabricación de medicamentos, por ello, los medicamentos deben ser desarrollados por fabricantes que cumplan con los requisitos normativos de la *NOM-059-SSA1-2015*, “*Buenas prácticas de fabricación de medicamentos*” aplicables para medicamentos comercializados en el país, con fines de investigación, desarrollados a nivel industrial y a nivel Planta Piloto. En la página oficial de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco se establece que la Planta Piloto cumple con una infraestructura equipada con los estándares de la *NOM-059-SSA1-2015* “*Buenas prácticas de fabricación de medicamentos*” de diseño y construcción de las áreas con acabados sanitarios e instalaciones de materiales que permiten su limpieza y evitan la acumulación de partículas reduciendo los riesgos de contaminación en los proyectos de investigación, y para reducir cualquier riesgo sanitario dentro de la Planta Piloto, es importante la verificación del funcionamiento del sistema de calidad, áreas, instalaciones, personal y procesos, realizando evaluaciones del grado de cumplimiento de las normas de aplicación y requisitos.

OBJETIVO (S): (Claro y conciso)

Evaluar el cumplimiento del numeral 8 de la NOM-059-SSA-2015 “Buenas prácticas de fabricación de medicamentos”, en la Planta Piloto, mediante la ejecución de la visita de verificación.

MATERIALES Y MÉTODOS: (Puede incluir figuras y/o esquemas)

La metodología que se llevó a cabo para el presente proyecto se ejecutó mediante el ciclo de Deming PHVA (Planear-Hacer-Verificar-Actuar), ya que es una estrategia de resolución de problemas, para mejorar procesos e implementar cambios (Diagrama 1).

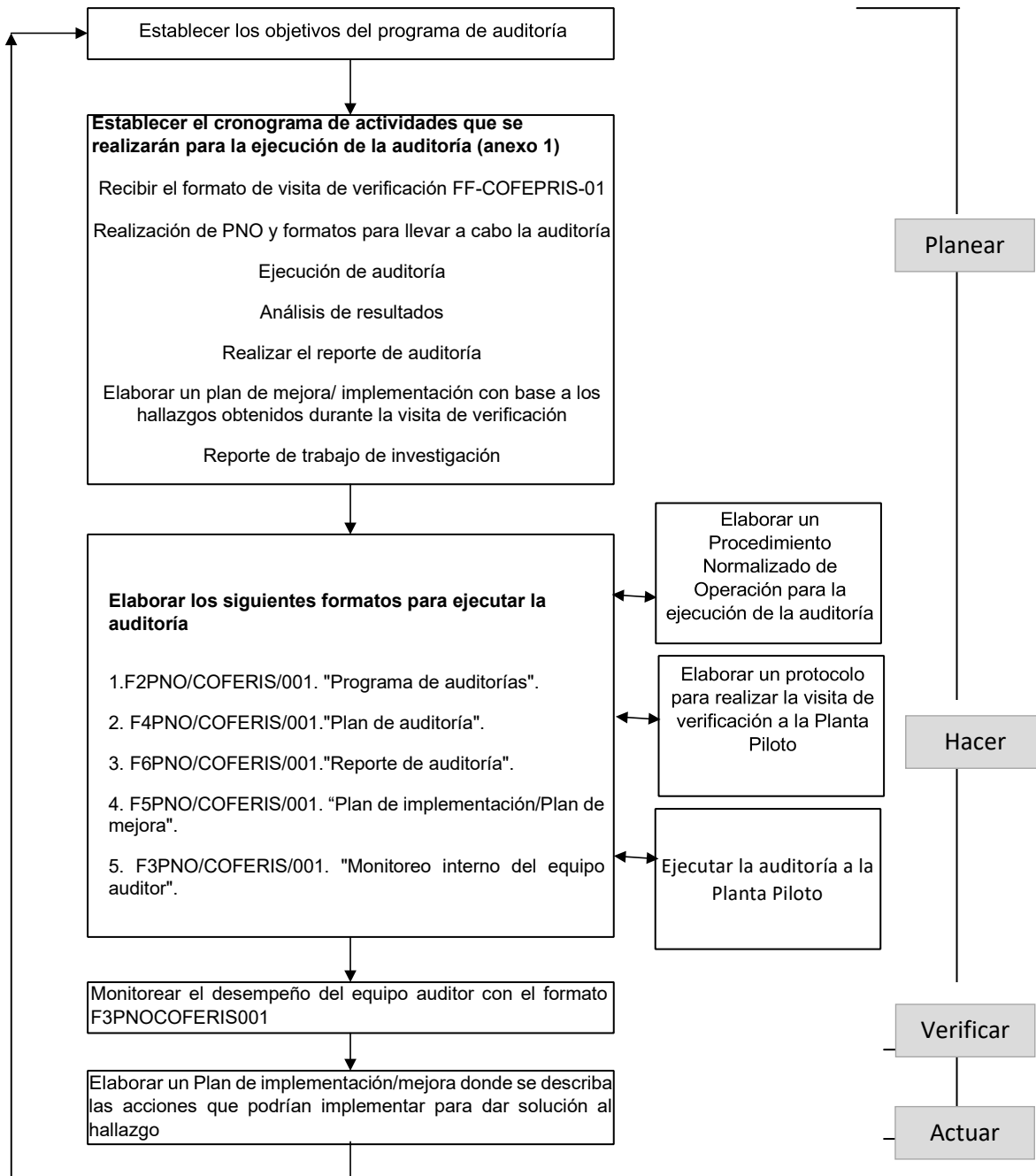


Diagrama 1. Metodología del ciclo de Deming PHVA para realizar una auditoría

RESULTADOS:

Para cumplir con el objetivo general se realizó un cuestionario de preevaluación, en donde la información recabada fue útil para conocer el alcance de la Planta Piloto, está compuesto de 32 preguntas, las cuales incluyen temas administrativos, descripción de la planta, el personal, aseguramiento de calidad y sistema de gestión de calidad, con base a la información brindada, se pudo establecer y delimitar el objetivo y alcance de la auditoría. Tomando en cuenta lo anterior se identificaron los puntos aplicables del numeral 8 de la *NOM-059-SSAI-2015*, los cuales se plasmaron dentro del plan de auditoría, lo cual resultó en 32 puntos a verificar, los cuales acotan temas como equipos, instalaciones, áreas de producción, almacenamiento, control de calidad y áreas auxiliares. Otro de los resultados fue la elaboración de un Procedimiento Normalizado de Operación (PNO) el cual brindó las instrucciones mínimas necesarias para la planificación y ejecución de una Auditoría, se elaboró con base a los requisitos mínimos necesarios establecidos en el suplemento de la *FEUM*, se establecen puntos como la programación, codificación, planificación, monitoreo interno de auditores, elaboración y llenado de documentación, ejecución, cierre y seguimiento de una auditoría. Para la planificación de la auditoría realizada a la Planta Piloto y con base en lo establecido en el PNO, se elaboró el protocolo de ejecución, en el cual se asentó el plan de trabajo para la realización de la visita de verificación a la Planta Piloto; una vez que se planteó el protocolo y demás documentación necesaria se procedió a la ejecución de la auditoría, para esto se programó el día para esta verificación, se realizó el monitoreo interno de auditores; una vez concluido el proceso se asentaron los hallazgos derivados de éste, y se registró en el reporte de auditoría, el cual se envió al auditado para firma de conformidad, y para dar fe y legalidad se le hizo de su conocimiento al auditado el llenado y firma de conformidad del acta de verificación. Se debe recordar que en gestión de calidad todo aquello que no se encuentra documentado no existe por lo tanto, es difícil que pueda ser reproducible, de ésta manera no se puede garantizar la calidad de los procesos que se realizan, a partir de los resultados obtenidos de la auditoría se realizó un plan de implementación/mejora.

Con base en los hallazgos identificados de acuerdo con lo auditado con el numeral 8 de la *NOM-059-SSAI-2015*, se propone lo siguiente para instalaciones y equipos, se identificaron varios puntos a implementar, como la elaboración del PNO donde se determine el tipo de mantenimiento (preventivo/correctivo), así como programas y un protocolo de mantenimiento correctivo el cual se debe realizar en función a una falla o avería mecánica no prevista. Por otro lado, para la parte de limpieza, elaborar PNOs necesarios para instalaciones y equipos donde se acote la rotación de detergentes y desinfectantes, la forma en que se debería de realizar esta actividad y la frecuencia, además de la implementación de PNOs donde se integren los programas calendarizados y un diseño donde se identifiquen los cebos, trampas para realizar la fumigación y control de la fauna nociva; para la calibración de los instrumentos elaborar los PNOs necesarios donde se acote la frecuencia, basado en las especificaciones de cada instrumento; por otra parte también es importante la planificación, elaboración e implementación de un protocolo de calificación del diseño, construcción e instalación de la Planta Piloto, en el que se acote las especificaciones del (los) usuario (s) respecto al acabado sanitario de acuerdo con la normatividad aplicable y con apoyo del área correspondiente realizar diseños donde se identifique la distribución, ubicación y

dimensiones de los equipos, instrumentos, luminarias y ductos de extracción de todas las áreas de la Planta Piloto, así como el flujo del personal dentro de estas.

Por otra parte, se observó que no se lleva un control de la temperatura y humedad, es por esto que se recomienda la implementación de un instrumento que permita el monitoreo en tiempo real de la temperatura y humedad así como de bitácoras para la realización de los reportes e identificación de las variaciones. En el área de producción se recomienda implementar recursos visuales que permitan la identificación de las tuberías y la dirección de los flujos; así como coadyuvar con el área correspondiente para elaborar los PNOs necesarios de seguridad e higiene que respondan a la necesidades de la Planta Piloto basado en la *NOM-026-STPS2008, “Colores y señales de seguridad e higiene, e identificación de riesgos por fluidos conducidos en tuberías”*, en el área de almacenamiento se recomienda verificar que el mobiliario no sea una fuente o sustrato para la reproducción de microorganismos y fauna nociva o bien establecer las medidas fitosanitarias en el tratamiento de madera como se menciona en la *NOM-144-SEMARNAT-2017, “Que establece las medidas fitosanitarias y los requisitos de la marca reconocidas internacionalmente para el embalaje de madera que se utiliza en el comercio internacional de bienes y mercancías”*; también se recomienda realizar el control de los insumos, por lo cual es necesario establecer un sistema de identificación interno, un programa donde se realice el inventario e implementar un sistema de registro de entradas y salidas de estos. Además, las áreas auxiliares deben ser de fácil acceso sin embargo se observó que no había áreas como baños, ropería y duchas, por lo que se propone la elaboración de un análisis de riesgos el cual este enfocado en qué áreas deben ser incluidas dentro de la Planta Piloto o bien justificar la ausencia de éstas; debido a lo anterior se recomienda contar con un PNO de contingencia, accidentes y primeros auxilios en el que se describa las acciones de tomar. Por último en el sistema de gestión de calidad no podemos hablar de calidad, seguridad y eficacia si no se demuestra el cumplimiento con evidencia documental objetiva, por lo tanto se establecen los requerimientos mínimos necesarios para que la Planta Piloto logre robustecer la organización y control de actividades asociadas a la calidad como el manual de calidad, sistema de auditorías, manejo de desviaciones y sistema CAPA, control de cambios, control de documentos y buenas prácticas de documentación.

CONCLUSIONES:

Al evaluar el numeral 8 de la *NOM-059-SSA1-2015, “Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos”*, en la Planta Piloto de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, se concluye que ésta no cumple, obteniendo una calificación de 15.62% siendo no aprobatoria al ser menor del 85%. El no cumplimiento fue por la falta de planificación, desarrollo e implementación del sistema de gestión de calidad empleado dentro de la Planta Piloto.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Anaya Durand, A., & Pedroza-Flores, H. (2008). Escalamiento, el arte de la ingeniería química: Plantas piloto, el paso entre el huevo y la gallina. *Tecnología, Ciencia, Educación*, 23(1), 31-39.
2. Bravo, G. R. (2020, 29 mayo). Proceso de verificación sanitaria a tu negocio. Secretaría de Salud | Gobierno de Puebla. <https://ss.puebla.gob.mx/dpris/proceso-de-verificacion-sanitaria-a-tu-negocio>
3. COFEPRIS. (2017). Visita Sanitaria Trámites. Recuperado de <https://www.gob.mx/cofepris/acciones-y-programas/visita-sanitaria-tramites>
4. COFEPRIS. (2018). Protección contra Riesgos Sanitarios. Recuperado de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/400539/pae_cofepris.pdf
5. COFEPRIS. (2022). Visitas de verificación realizadas por COFEPRIS. Recuperado de <https://www.gob.mx/cofepris/acciones-y-programas/visitas-de-verificacion-realizadas-por-cofepris>.
6. Diario Oficial de la Federación. (2016). NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2015, Buenas prácticas de fabricación de medicamentos. Disponible en: https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5424575&fecha=05/02/2016#gsc.tab=0
7. Ley General de Salud (LGS). 16 may 2022, Art 398. Diario Oficial de la Federación.
8. Pintado Burgos, L. N. (2018). Gestión de Auditorías Internas en un Laboratorio Farmacéutico.
9. Rodríguez Aveleyra, M. L., & Aguilar Gill Samaniego, G. (2020, marzo). Guía sobre la aplicación de criterios que se deben observar para la evaluación de la certificación de buenas prácticas de fabricación de fármacos, medicamentos, dispositivos médicos y almacenes de acondicionamiento primario que acompañen a las solicitudes de modificaciones, prórrogas y registros sanitarios. Cofepris. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/539408/Guia_sobre_la_aplicacion_de_criterios_Certificacion_de_Buenas_Practicas_de_Fabricacion_ver._06_de_marzo_de_2020.pdf
10. Rodríguez Camargo, Z., & Valbuena Gómez, F. (2016). Diseño de un sistema de gestión de calidad para un laboratorio farmacéutico colombiano con énfasis en el proceso de investigación y desarrollo.
11. Secretaría de Salud. (2008). Programa de Acción Específico (2007-2013). Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, México, p. 17
12. Universidad Autónoma Metropolitana. (2021). Reinauguración de la Planta Piloto. Cauce, disponible en: <https://cauce.xoc.uam.mx/2021/12/09/reinauguracion-de-la-planta-piloto/>
13. Yáñez, J., & Yáñez, R. (2012, diciembre). Auditorías, Mejora Continua y Normas ISO: factores clave para la evolución de las organizaciones. Redalyc. <https://www.redalyc.org/pdf/2150/215026158006.pdf>

Ejes Temáticos

Biofarmacia (BFA)

Carteles

PREDICCIÓN DEL RENDIMIENTO *IN VIVO* DE TABLETAS COMERCIALES DE METRONIDAZOL A PARTIR DE ESTUDIOS DE DISOLUCIÓN *IN VITRO*

Cynthia Abigail Cortés Mendoza¹, María Fernanda Hernández Jiménez¹, Karen Marisol Sánchez Flores¹, Erik Cruz Velez Cortez¹, Angélica Zárraga Pineda¹, José Raúl Medina López¹, María Luisa Margarita Vázquez Ramírez¹.

¹Departamento de Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, UAM-Xochimilco.

*Autor de correspondencia: María Fernanda Hernández Jiménez.

Correo: 2183025801@alumnos.xoc.uam.mx

Palabras clave: convolución, disolución, metronidazol.

INTRODUCCIÓN: El metronidazol es un antibiótico que pertenece a la clase I del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB), ampliamente utilizado para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales causadas por bacterias y parásitos. Al ser un fármaco altamente soluble y permeable, los estudios de disolución proporcionan información relevante acerca de la liberación del fármaco a partir de la forma farmacéutica. En este sentido, las pruebas *in vitro* son indispensables para evaluar las propiedades biofarmacéuticas del producto, puesto que permiten determinar parámetros del proceso como la constante de velocidad, el tiempo necesario para que se disuelva un determinado porcentaje del fármaco (tn%), eficiencia de disolución, entre otros. Además, al evaluar la liberación del fármaco a partir de medios a diferentes pH, se puede estimar su disolución en las distintas condiciones del tracto gastrointestinal. Por esta razón, los perfiles de disolución pueden predecir el comportamiento *in vivo* (representado por el perfil de concentración-tiempo del fármaco en humanos) ya que la absorción está limitada por la disolución del fármaco en el organismo.

Sin embargo, para evaluar el comportamiento *in vivo* del fármaco, es necesario establecer el método de convolución, el cual se basa en los datos de disolución *in vitro* de un medicamento de prueba para establecer los perfiles de concentración plasmática en función del tiempo. Para ello, sólo se requiere de parámetros farmacocinéticos del producto de prueba, tales como el volumen de distribución, la fracción biodisponible, $C_{m\acute{a}x}$, ABC y la velocidad de eliminación. No obstante, una vez obtenido el perfil plasmático predicho mediante convolución, es importante determinar la confiabilidad de éste mediante el cálculo del porcentaje de error de predicción (%PE), cuya fórmula toma en cuenta los parámetros observados y predichos ($C_{m\acute{a}x}$ o ABC). Su valor debe ser menor al 15%, según la FDA, para asegurar la confiabilidad de los resultados. Es por esto que la convolución es útil en el desarrollo del producto, en el que se necesitan establecer las características *in vivo* deseadas, beneficiando los costos de producción al no requerir ensayos *in vivo*, ni métodos computacionales complejos.

OBJETIVO: Obtener perfiles plasmáticos a partir de datos de disolución *in vitro* de tabletas orales de metronidazol, para la predicción de su rendimiento *in vivo*.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se realizaron perfiles de disolución de tabletas genéricas de 500 mg de metronidazol (Lamblit®), en el aparato 1 USP, a 100 rpm y 37 °C; en tres diferentes medios de disolución: a pH 1.2, 4.5 y 6.8. Las muestras fueron tomadas a los 10, 20, 30, 45 y 60 min y se leyeron en el espectrofotómetro a 278 nm; los resultados se procesaron en el complemento *DDSolver*. Posteriormente, se obtuvieron perfiles plasmáticos a partir de los datos de disolución *in vitro* mediante convolución, con base en los parámetros farmacocinéticos reportados por Jensen y Gugler (1983): $F = 0.999$, $t_{1/2} = 8.7$ h, $V_d = 73.87$ L, $C_{m\acute{a}x} = 5.8$ $\mu\text{g/mL}$ y $ABC_0^\infty = 67.68$ $\mu\text{g/mL}\cdot\text{h}$. Además, se calculó el porcentaje de error de predicción (%PE), mediante la comparación de $C_{m\acute{a}x}$ y ABC_0^∞ entre los datos predichos y reportados en la literatura, previamente ajustando los perfiles predichos a Modelo Abierto de Dos Compartimentos, con el complemento de *Microsoft Excel PKSolver*; además de ajustar los datos observados a una dosis de 500 mg, asumiendo una farmacocinética lineal.

RESULTADOS: En la *Figura 1* se observa el perfil de disolución en cada medio. De acuerdo con el parámetro de calidad $Q=85\%$, el medicamento se disolvió adecuadamente a los 60 min. Cabe destacar, que a pH 1.2 se alcanzó el mayor porcentaje de fármaco disuelto a los 60 min (Q_{60}), así como la mejor eficiencia en la disolución (%ED). Por otro lado, a pH 4.5 se obtuvieron el mejor tiempo medio de disolución (TMD) y $t_{50\%}$, indicando que en este medio la disolución fue más rápida, puesto que se requirió de menos tiempo para disolver el 63.2 % y el 50 % del fármaco, respectivamente. En contraste, a pH 6.8 la disolución no fue muy favorable, lo que confirma que ésta depende de la solubilidad del metronidazol en el medio.

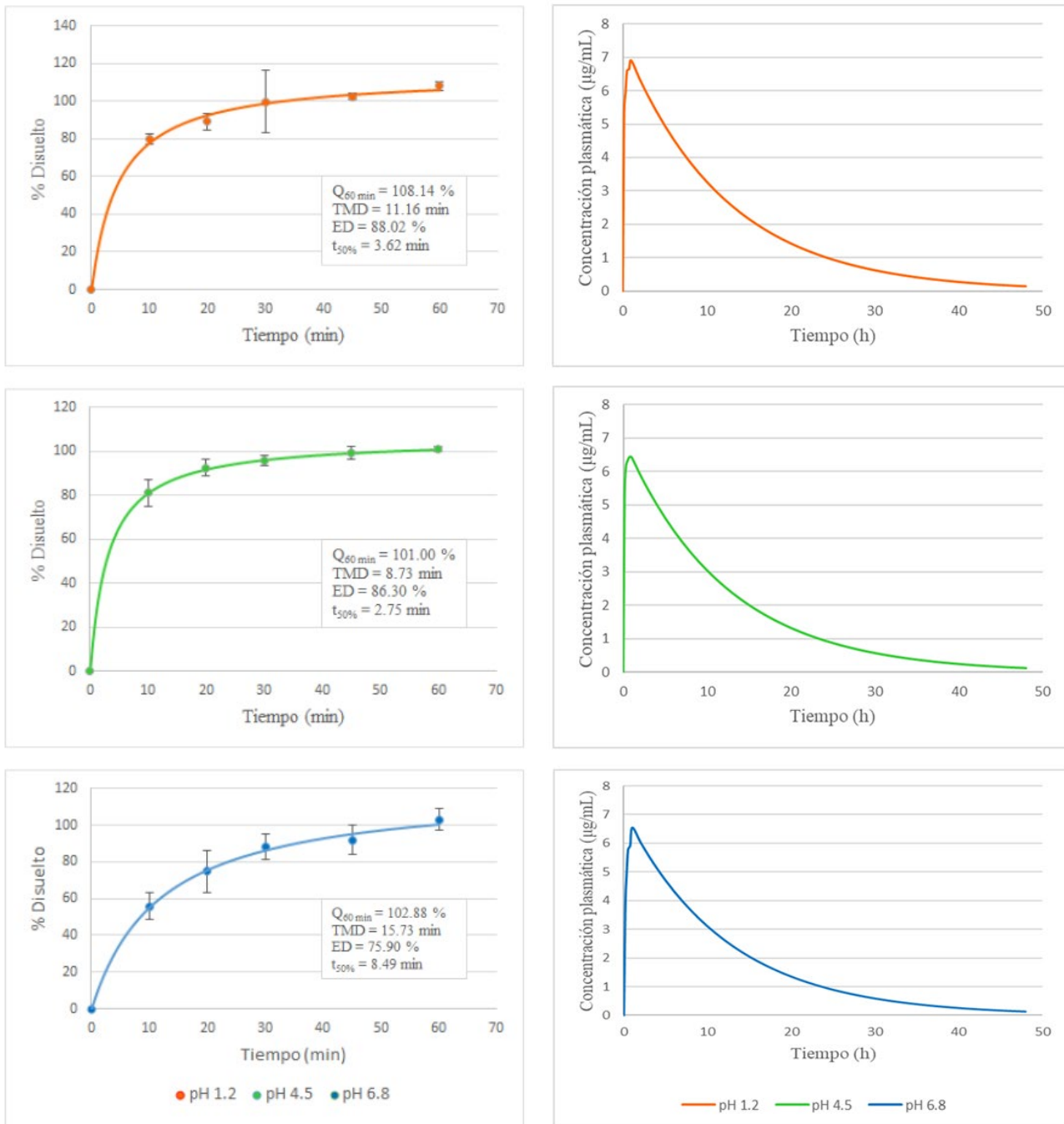


Figura 1. Perfiles plasmáticos (derecha) obtenidos por convolución a partir de los perfiles de disolución *in vitro* (izquierda) en cada medio.

Por su parte, la convolución permitió obtener perfiles plasmáticos que cumplieron con el criterio de la FDA (Tabla 1). Por ello, se asume que se generaron resultados confiables, de tal forma que se espera que después de la administración *in vivo* de las tabletas, la $C_{\text{máx}}$ y el ABC_0^∞ tengan valores similares a los predichos, alcanzando el efecto terapéutico deseado.

Tabla 1. Parámetros farmacocinéticos predichos y observados, así como el %PE (criterio de aceptación: %PE<15 %).

Medio de disolución	Parámetro farmacocinético	Valor predicho (dosis 500 mg)	Valor observado (dosis 400 mg)	Valor observado ajustado (dosis 500 mg)	% PE
HCl 0.1 N	$C_{\text{máx}}$ ($\mu\text{g/mL}$)	6.85	5.80	7.25	5.52
	ABC_0^{∞} ($\mu\text{g/mL}\cdot\text{h}$)	89.18	67.68	84.60	-5.41
pH 4.5	$C_{\text{máx}}$ ($\mu\text{g/mL}$)	6.53	5.80	7.25	9.99
	ABC_0^{∞} ($\mu\text{g/mL}\cdot\text{h}$)	83.27	67.68	84.60	1.57
pH 6.8	$C_{\text{máx}}$ ($\mu\text{g/mL}$)	6.36	5.80	7.25	12.29
	ABC_0^{∞} ($\mu\text{g/mL}\cdot\text{h}$)	83.93	67.68	84.60	0.80

CONCLUSIONES: Los perfiles de disolución *in vitro* de las tabletas de metronidazol son útiles para predecir los perfiles plasmáticos tras la administración del medicamento, sin necesidad de estudios farmacocinéticos en sujetos de investigación.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Jensen, J.; Gugler, R. *Clin. Pharmacol. Ther.* **1983**, 34, 481–487.
2. Qureshi, S. (2010). *Open Drug Deliv. J.* 4, 38-47.
3. Tiwari, G., Srivastawa, B., Pandey, S., Tiwari, R., Rai, A., Pandey, P. y Bhati, L. **2011**, *Chron. Young Sci.*, 2, 126-133.
4. Diario Oficial de la Federación. **2013**, NOM-177-SSA1.

Ejes Temáticos

*Biotecnología, Biología Molecular y
Microbiología (BTM)*

Carteles

SECUENCIA COMPLETA DEL GENOMA DE UNA CEPA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A LA METICILINA AISLADA DE UN PORTADOR INTERMITENTE DE FARINGE

Samuel González García^{1*}, Aida Hamdan Partida², Julia Pérez Ramos³, José Félix Aguirre Garrido⁴, Jaime Bustos Martínez²

¹ Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud UAM, ² Depto. Atención a la Salud, UAM-X, ³ Depto. Sistemas Biológicos, ⁴ Depto. Ciencias Ambientales, UAM-L.

*Autor de correspondencia:

Correo: sgonzalezg@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Genoma completo, *Staphylococcus aureus*, resistencia, faringe

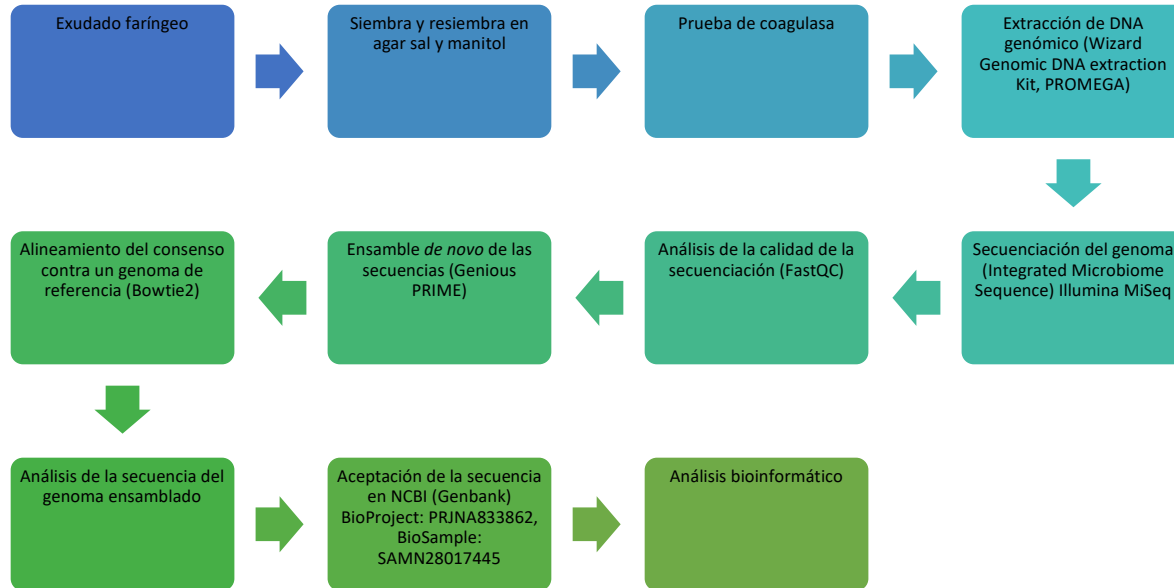
INTRODUCCIÓN: *Staphylococcus aureus* es una bacteria Gram positiva que vive en simbiosis con el humano, es un oportunista y patógeno potencialmente letal [1, 2] de gran importancia clínica debido a los diferentes factores de virulencia, invasividad y resistencia que puede poseer [3]. En el humano coloniza diversos tejidos formando parte la microbiota normal [3, 4]. El uso generalizado de antibióticos, en particular su uso inapropiado y excesivo ha favorecido la aparición y mantenimiento de cepas de *S. aureus* resistentes a múltiples antibióticos como la penicilina, la meticilina (*S. aureus* resistente a la meticilina; MRSA) [5, 6] o la vancomicina que se asocian con altas tasas de morbilidad y mortalidad en muchas regiones del mundo [7].

Se han encontrado portadores de *S. aureus* en faringe y han sido reportados con alta variabilidad en distintas poblaciones desde 4 hasta 64% en faringe [8], algunos estudios mencionan mayor tasa de portadores en faringe que nariz cuando se toman muestras en paralelo [9, 10, 11].

Actualmente el estudio de los factores de virulencia se lleva a través de la secuenciación de genoma completo (whole genome sequence, WGS). Se han realizado varias investigaciones con datos de WGS de *S. aureus* para predecir la susceptibilidad y la resistencia a fármacos antimicrobianos

OBJETIVO: Determinar la secuencia completa de un genoma de una cepa de *Staphylococcus aureus* MRSA aislada de la faringe.

MATERIALES Y MÉTODOS:



RESULTADOS: Se realizó un corte de hasta 15 nucleótidos en los extremos 5' y 3' de las lecturas de los archivos de secuenciación y se realizó en ensamble de novo en Genious Prime, obteniendo un consenso utilizando el 94.32% de todas las lecturas secuenciadas y una N50 de 3, con 20 contigs mayores de 1000 pb. El consenso se alineo contra el genoma de la cepa de *S. aureus* NRS 384, generando un cromosoma de longitud de 2,879,076 pb, con 9 gaps y 0.03% de Ns, además, se alineo el consenso contra el genoma de la cepa de *S. aureus* ATCC 1680, alineando un plásmido con 0.1% de Ns. Ambas secuencias se guardaron en un documento y se subieron a GenBank de NCBI. Una vez aprobadas las secuencias, se descargaron los archivos y se reanalizaron, encontrando que la longitud del cromosoma es de 2,879,076 pb y del plásmido de 26,428 pb. El cromosoma tiene 2,887 genes y el plásmido 34, con 2,808 y 34 regiones codificantes, 19 genes de rRNA y 56 tRNA. El genoma presenta los genes de adhesinas: *atl*, *ebh*, *clfA*, *clfB*, *eap*, *fnbA*, *fnbB* y tiene el spa-tipo t008, también posee todos los genes del operon *ica* (*icaA*, *icaB*, *icaC*, *icaD* e *icaR*) y los genes *sdrC*, *sdrD* y *sdrE* que participan en la formación de biopelículas. En cuanto a la presencia de genes de resistencia a antibióticos, la secuencia del genoma anota los genes: *Aph(3')-III*, *mecA*, *blaZ*, *mphC*, y *msrA* (aminoglucósidos, meticilina, penicilina, macrólidos y bomba de eflujo de macrólidos). En el caso de los genes de toxinas, el genoma anota: los cuatro genes de hemolisinas (*hla*, *hly*, *hlc* y *hld*), las enterotoxinas *selK* y *selQ*, además de la leucocidina Pantón-Valentine (*lukF-PV* y *lukS-PV*).

CONCLUSIONES:

Se realizó el ensamble de un genoma completo de *S. aureus* aislado de un portador persistente de faringe, se encontraron varios genes de resistencia a varios tipos de antibióticos, la secuencia tipifica diversos genes de adhesinas, formación de biopelículas y toxinas, particularmente las dos subunidades de la leucocidina Pantón-Valentine.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Brown AF, Leech JM, Rogers TR, McLoughlin RM.. *Front Immunol.* **2014**, 4:1-20.
2. Mistretta N, Brossaud M, Telles F, Sanchez V, Talaga P, Rokbi B. *Sci Rep.* **2019**; 1:1-11
3. Kadariya J, Thapaliya D, Bhatta S, Mahatara RL, Bempah S, Dhakal N. *Res Int* **2019**;2019:1-11
4. Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG. *Clin Microbiol Rev* **2015**;3:603-61.
5. Khairalla AS, Wasfi R, Ashour HM. *Sci Rep* **2017**;7:1-16.
6. Rodríguez-Lázaro D, Oniciuc EA, García PG, Gallego D, Fernández-Natal I, Dominguez-Gil. *Front Microbiol* **2017**;8:1-10.
7. Young BC, Votintseva AA, Foster D, Godwin H, Miller RR, Anson LW. *J Hosp Infect* **2017**;3:232-7.
8. Mertz D, Frei R, Jaussi B, Tietz A, Stebler C, Flückiger U. *Clin Infect Dis.* **2007**;45:475-7.
9. Sollid JUE, Furberg AS, Hanssen AM, Johannessen M. *Infect Genet Evol* **2014**;21:531-41.
10. Hamdan-Partida A, Sainz-Espuñes T, Bustos-Martínez J. *J Clin Microbiol* **2010**;48:1701-5.
11. Hamdan-Partida A, González-García S, de la Rosa García, E, Bustos-Martínez J. *Int J Med Microbiol* **2018**;308:469-75.

DIVERSIDAD DE LA COMUNIDAD BACTERIANA DE LA RIZÓSFERA DE *Lactuca sativa* DURANTE SU PRODUCCIÓN EN SISTEMAS DE RECIRCULACIÓN ACUAPÓNICOS (APS)

Autores: Rosa Raquel Sánchez Jiménez, José Aguirre Garrido, Pierre Christen y Patricia Martínez Cruz

Resumen Los sistemas acuapónicos son unidades de producción de alimentos de manera sustentable, donde el agua que proviene de los estanques de peces es rica en nutrientes proporcionando los requerimientos nutricionales a las plantas. Dentro de estos sistemas el papel de las comunidades bacterianas que colonizan los diferentes compartimentos es crucial, ya que permite el equilibrio entre las especies que se están cultivando. Sin embargo, el estudio sobre las comunidades bacterianas en diferentes compartimentos es limitado, entre estos la rizosfera. Este microbioma confiere a la planta rasgos benéficos o perjudiciales que impacta de manera directa en la salud y crecimiento de la planta. En el presente proyecto se estudió a nivel metagenómico la diversidad de las comunidades bacterianas que se encuentran asociadas a la rizosfera de *Lactuca sativa* durante su cultivo en dos sistemas acuapónicos con diferente unidad hidropónica, sistema acuapónico en capa de nutrientes y en sustrato. Los parámetros de calidad de agua (pH, temperatura y oxígeno disuelto) se mantuvieron en rango óptimo de tolerancia, mientras que los compuestos nitrogenados estuvieron por encima del rango óptimo de tolerancia. La tasa absoluta de crecimiento (TAC) y la tasa de crecimiento (TC) presentaron diferencias estadísticamente significativas, siendo el control del sistema acuapónico en sustrato quien registro los valores más altos entre los tratamientos. Se aislaron 3 bacterias de la rizosfera de *Lactuca sativa* asociada al ciclo del nitrógeno: *Bacillus simplex* y *Bacillus muralis* que corresponden del sistema acuapónico en sustrato, y *Pseudomonas nitroreducens* del sistema acuapónico en capa de nutrientes. En lo que refiere a la composición de las comunidades bacterianas se obtuvieron 30 órdenes siendo *Flavobacteriales* (18.95-30.56 %), *Rhodobacterales* (16.42 % - 34.35%) las ordenes más abundantes. Los estimadores de Shannon, Chao y Simpson indicaron que la mayor riqueza se registra en las muestras L.S 1 y L.S 2 que corresponden al tiempo inicial del cultivo (0 días), en comparación al final del mismo (35 días). Entre los sistemas acuapónicos, el sistema en sustrato fue el más diverso. Se registraron cuatro órdenes que presentaron diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos los cuales fueron *Rhizobiales*, *Legionellales*, *Rhodocyclales* y *Shigomonadales*. Los resultados evidenciaron que existen diferencias en composición y estructura de la comunidad bacteriana en la rizosfera de *Lactuca sativa* en los sistemas acuapónicos, por efecto de la cama de cultivo y las diferencias en los parámetros de calidad de agua afectando la diversidad de las comunidades, así como el crecimiento de las lechugas.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Bifidobacterium longum* A PARTIR DE MATERIA FECAL DE NEONATOS

Pedro A. Reyes-Castillo^{1*}, Edgar Torres-Maravilla², Martha Leyte-Lugo³, Alejandro A. Azaola-Espinosa⁴, Raquel González-Vázquez^{5*} y Lino Mayorga-Reyes⁶

1. *Laboratorio de Biotecnología, Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México 04960, México; pietroreyes08@gmail.com
2. INRAE, AgroParisTech, Micalis Institute, Université Paris-Saclay, 78350 Jouy-en-Josas, France; edgar.torres-maravilla@inrae.fr
3. Laboratorio de Biotecnología, Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México 04960, México; mleyte@correo.xoc.uam.mx
4. Laboratorio de Biotecnología, Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México 04960, México; azaola@correo.xoc.uam.mx
5. *Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Sistemas Biológicos, CONACYT-Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México 04960, México; rgonzalezv@correo.xoc.uam.mx
6. Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México 04960, México; lmayorga@correo.xoc.uam.mx

Pedro A. Reyes-Castillo y Raquel González-Vázquez
pietroreyes08@gmail.com y rgonzalezv@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Obesidad, medidas antropométricas, dieta, insulina y leptina.

INTRODUCCIÓN:

El tracto gastrointestinal humano alberga un ecosistema microbiano complejo y dinámico compuesto por billones de microorganismos que se denominan colectivamente microbiota intestinal, dichos microorganismos son capaces de regular muchos aspectos de la fisiología del huésped, inducir respuestas metabólicas, estructurales y de protección. Es conocido que cada una de estas funciones se relaciona entre sí e intervienen en distintos procesos para mantener un estado saludable dentro del huésped [1].

La composición de la microbiota es variable, el inicio de la colonización ocurre durante el nacimiento, donde predomina bacterias pertenecientes al género *Bifidobacterium*, siendo uno de los primeros en colonizar el tracto gastrointestinal humano alcanzando su estabilidad hasta los 2-3 años [2]. La cantidad de *Bifidobacterias* en la microbiota colónica total de los lactantes alimentados con leche materna es aproximadamente de un 90% y disminuye a un 5 % en adultos [3]. Si bien, la microbiota intestinal en la etapa adulta se caracteriza por ser estable; sin embargo, es determinada en la infancia, ya que la composición de la microbiota intestinal de los neonatos sufre cambios dinámicos en composición, abundancia y diversidad, lo que puede conducir en efectos significativos a largo plazo para la salud [4].

Bifidobacterium longum (*B longum*) es una de las cepas probióticas establecidas con numerosos beneficios profundos para la salud en humanos mejorando la salud gastrointestinal y aliviando trastornos alérgicos. *B longum* BB536 se aisló a partir del intestino de un bebé sano en 1969. BB536 se ha incorporado en varios productos como bebidas a base de leche, yogur, fórmula infantil y suplementos nutricionales como ingrediente alimentario funcional [5]

OBJETIVO (S):

Aislar e identificar *Bifidobacterias* a partir de la materia

fecal de neonatos **MATERIALES Y MÉTODOS:**

Selección de la población de estudio: Se captaron neonatos nacidos por vía vaginal del servicio de alojamiento conjunto del Hospital Gineco-Obstetricia No. 4, perteneciente al IMSS; a partir de allí se identificó a los neonatos clínicamente sanos de acuerdo al test de Apgar con un valor ≥ 8 y el test de capurro 37-41 semanas de gestación. El procedimiento para invitar a las participantes, se realizó proporcionando información completa, precisa y suficiente sobre el estudio. A los participantes que cumplieron con los criterios de inclusión, se les invitó a formar parte del estudio de manera voluntaria y confidencial. Se proporcionó una carta de consentimiento informado, explicando ampliamente como se realizó el estudio para aislar bacterias con potencial probiótico, a partir de la microbiota intestinal de neonatos, la toma de datos clínicos y muestra de materia fecal (tomada del pañal del bebé).

Colección de la muestra: Se recolectará una muestra de materia fecal y/o el meconio, del pañal dentro de las 48 horas posteriores al nacimiento. Las muestras se homogenizarán con buffer de fosfatos (PBS) 1X; posteriormente, será inoculada en medios líquidos TPY los cuales se almacenarán en un recipiente hermético con gaspack a 25°C para su traslado. En el laboratorio, los frascos previamente inoculados, se colocarán en la cámara de anaerobiosis y se inocularán en placas de TPY, las placas se incubarán en condiciones anaerobias (85 % nitrógeno, 10 % hidrógeno, 5 % dióxido de carbono) a 37 °C durante 28 H.

Aislamiento de bacterias: A partir de las 24 H de incubación, se revisarán el crecimiento de microorganismos en las placas. Si hay crecimiento se realizará una purificación de cada colonia de acuerdo a la morfología en placas TPY; si no hay crecimiento se dejará incubando 24 H. Una vez transcurrido este tiempo, si no hay crecimiento se desechan las placas y si hay crecimiento se realizará el mismo procedimiento de aislamiento. A las bacterias aisladas en medio TPY se les realizará la prueba de catalasa usando peróxido de hidrógeno 3%. Las bacterias catalasa positivo se descartarán y a las bacterias catalasa negativas se les realizará una tinción Gram. Se descartarán todas las bacterias Gram negativas y se realizará una siembra de las bacterias Gram positivas en medio líquido de TPY con 20% glicerol y en placas para realizar la identificación.

Identificación: Se confirmó mediante análisis de secuencias de ARNr 16S. El ADNg total se aisló con el kit de purificación de ADN genómico Wizard® (Promega) según las instrucciones del fabricante. El 16S rDNA fue secuenciado en Divisional Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Autónoma Metropolitana campus Iztapalapa, ciudad de México, utilizando los primers 9F- 1512r. La comparación y el alineamiento de las secuencias se realizaron utilizando MEGA5 y el alineamiento local básico herramienta de búsqueda de NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Secuenciación del genoma: Las muestras se secuenciaron en el Integrated Microbiome Resource (IMR, Dalhousie Universidad, 110 NS, Canadá) [6]. El montaje fue realizado por IMR usando SMRT programa de análisis. Después de ensamblar todo el genoma, la

ubicación de la proteína- secuencias de codificación, genes de ARNt, genes de ARNr, genes de ARNtm y CRISPR fueron predicho usando Prokka v1.12-beta [7].

RESULTADOS:

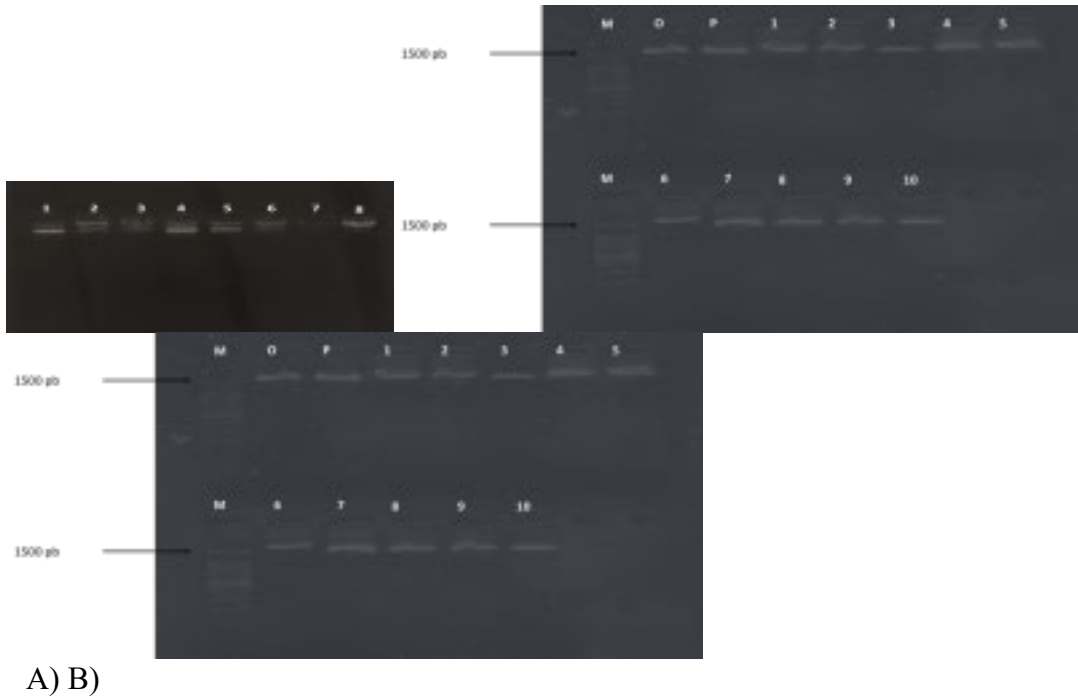
En el servicio de alojamiento conjunto del Hospital de Gineco-Obstetricia No. 4 "Luis Castelazo Ayala", se captaron 77 neonatos, de los cuales el 69% nacieron por parto quirúrgico y el 31% por parto fisiológico. A las madres de los neonatos que nacieron por parto natural (n =24), se les hizo la invitación a participar en el estudio. De las cuales, el 92% aceptaron participar; sin embargo, del 46% no se logró coleccionar la muestra de materia fecal durante su estancia en el hospital (<24 horas), quedando un total de 46% neonatos "n=12". Para determinar el estado de salud de los neonatos, se consideró: el peso (3.14 ± 0.4), talla (48.64 ±3.3), test de Apgar (8.36 ± 0.5) y test de Capurro (39.27 ±1.1).

En este estudio se encontraron 7 bacterias de interés en las muestras, a las bacterias se les realizó tinción gram, prueba de la catalasa y hemolisis (Cuadro 1). Se extrajo el ADN genómico (Figura 1A), donde se observa que se encuentra que el ADN estuvo integro. En la Figura 1B se observan los productos de PCR. En el análisis bioinformático se encontraron 7 bacterias de interés (Cuadro1). 4 de ellas pertenecientes al género *Lactobacillus*, 1 *Bifidobacterium*. Por lo que se descartaron los *Lactobacillus*. En cuando a la *Bifidobacterium* presentó un 100% de identidad con *Bifidobacterium longum*.

Cuadro1. Bacterias encontradas en los medios de cultivos específicos

Muestra	Medio TPY		
	Gram	catalasa	hemolisis
1	BGP	-	-
2	BGP	-	-
3	BGP	-	-
4	BGP	-	-
5	BGP	-	-
6	BGP	-	-
7	BGP	-	-

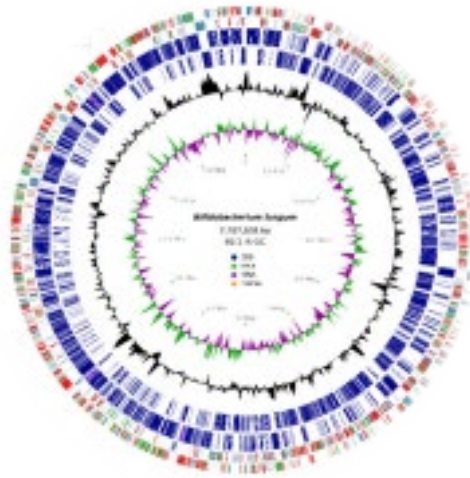
Figura 1A: ADN genómico. 1B: amplificado de PCR.



En el análisis genómico se encontró una longitud del genoma de 2,287,838 bp, 60.05% de contenido de GC, 1853 secuencias codificadoras de proteínas (CDS), 56 tRNA, 9 rRNA, 1 tmRNA. También, se realizó un mapa genómico circular de *B longum* (Figura 2). los CDSs codifica para transporte y metabolismo de carbohidratos (9.51%), transporte y metabolismo de aminoácidos (9.14%), transcripción (8.56%), metabolismo y transporte de lípidos (2.01%). El primer círculo muestra el contenido de GC en ambas cadenas de ADN, Forward en color verde y Reverse en color púrpura. El segundo círculo muestra el contenido de GC (%) normalizado con el contenido de GC del genoma completo. Los círculos tres y cuatro muestran la distribución de los ORFs identificados en el ensamblaje. Los círculos seis y

siete muestran la asignación funcional correspondiente a COG (Cluster of Orthologous Genes).

Figura 2. Mapa circular del genoma de *B*



longum

IX Congreso del de Departamento de Sistemas Biológicos

CONCLUSIÓN:

A pesar que en este estudio solo se pudo aislar una *Bifidobacteria*, la microbiota intestinal de neonatos es una adecuada fuente para aislar microorganismos con potencial probiótico ya que se logró aislar 6 especies de *Lactobacillus*. En cuanto al uso de especies de *Bifidobacterium* se han documentado su uso en el tratamiento de muchas formas de enfermedades gastrointestinales con un futuro prometedor. Por lo que se sugiere seguir las evaluaciones propuestas por la FAO y la OMS, para considerarse un microorganismo probiótico.

Por otro lado, conocer el genoma completo de *B longum* nos permite entender aún más el papel de esta bacteria en el metabolismo de los carbohidratos y las herramientas catalíticas que utiliza para adaptarlo en el tracto gastrointestinal de los mamíferos. Sin embargo, es necesario realizar más estudios en el laboratorio para, aumentar el conocimiento de sus posibles propiedades y el gen relacionado con posibles efectos sobre la salud y puede dar lugar a aplicaciones biotecnológicas basadas en el genoma en el salud humana y ciencia de los alimentos.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J.* 2017, 16;474(11).
2. Koenig JE, Spor A, Scalfonea N, Frickera AD, Stombaughb J, Knightb R, Angenentd LT, Ruth EL. Succession of microbial consortia in the developing infant

3. Rivière A, Selak M, Lantin D, Leroy F, De Vuyst L. Bifidobacteria and butyrate producing colon bacteria: importance and strategies for their stimulation in the human gut. *Front Microbiol.* 2016, 28;7:979.
4. Rodríguez JM, Murphy K, Stanton C, Ross RP, Kober OI, Juge N, Avershina E, Rudi K, Narbad A, Jenmalm MC, Marchesi JR, Collado MC. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microb Ecol Health Dis.* 2015, 2;26:26050.
5. Xiao J, Lee YK. *Handbook of probiotics and prebiotics.* NYSE: WLY 2009, 488-491.
6. Comeau André, M.; Douglas Gavin, M.; Langille Morgan, G.I. *Microbiome Helper: a Custom and Streamlined Workflow for Microbiome Research.* *mSystems* 2017, 2, e00127-00116.
7. Seemann, T. *Prokka: rapid prokaryotic genome annotation.* *Bioinformatics* 2014, 30, 2068-2069.

IMPACTO DIFERENCIAL DEL TRATAMIENTO ANTIÉPILEPTICO SOBRE LA LONGITUD TELOMÉRICA Y EL NÚMERO DE COPIAS DE DNA MITOCONDRIAL EN PACIENTES CON EPILEPSIA

Nancy Monroy Jaramillo¹, Salvador Sánchez Badajos²; Alberto Ortega Vázquez³; Iris E. Martínez Juárez⁴; Marisol López López³.

1. Departamento de Genética INNNMVS, 2. Maestría en Ciencias Farmacéuticas, UAM-Xochimilco; 3. Departamento de Sistemas Biológicos, UAM-Xochimilco; 4. Laboratorio de Investigación Clínica INNNMVS.

*Autor de correspondencia: Dra. Marisol López López
Correo: mlopez@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Longitud telomérica, número de copias de DNAm, epilepsia.

INTRODUCCIÓN: La epilepsia es un trastorno neurológico crónico que se puede presentar a cualquier edad, pero es altamente prevalente en adultos mayores¹. Dos de los fármacos antiepilepticos (FAE) más utilizados en el Instituto Nacional de Neurología son ácido valproico (VPA) y lamotrigina (LTG). La longitud telomérica (LT) y el número de copias de DNA mitocondrial (NC-DNAm) son biomarcadores de envejecimiento que se han estudiado en diversas enfermedades neurológicas.

OBJETIVO (S): Evaluar si VPA, LTG, o su combinación modulan la LT y/o el NC mtDNA en pacientes vs controles sanos.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se incluyeron 64 pacientes tratados con VPA, LTG o su combinación y 64 controles sanos. Los participantes firmaron carta de consentimiento informado del protocolo aprobado INNN_38/19. La cuantificación de la LT y el NC-DNAm de leucocitos se realizó mediante qPCR. Se realizó análisis de regresión múltiple con los datos.

RESULTADOS: La LT fue menor en pacientes con epilepsia vs. controles ($p=0.01$). Las diferencias permanecieron cuando se comparó la LT de pacientes tratados con LTG vs. VPA, LTG vs. LTG+VPA, y VPA vs. LTG+VPA ($p=0.0082$, 0.0480 y 0.0001 , respectivamente). En contraste, no se observaron diferencias en las comparaciones del NC-DNAm. El análisis de regresión múltiple demostró que la LT se asocia significativamente con: tratamiento FAE ($p=0.043$), edad ($p=0.006$) y NC-DNAm ($p=0.025$). Asimismo, se observaron correlaciones diferentes entre la LT y el NC-DNAm dependiendo del FAE analizado; siendo la más significativa la de LTG+VPA ($R=0.554$, $p=0.003$).

CONCLUSIONES: Es el primer estudio que evalúa conjuntamente la LT, el NC-DNAm y los FAE en pacientes con epilepsia. El tratamiento con LTG+VPA tuvo un mayor impacto en la disminución de la LT en comparación con la monoterapia con LTG o VPA. El análisis de correlación múltiple mostró que el tratamiento antiepileptico influye en el envejecimiento de los pacientes con epilepsia, incluyendo la correlación LT vs NC-DNAm.

USO DEL ICHIP PARA EL AISLAMIENTO DE BACTERIAS

Mónica Núñez Jiménez¹, Martha Leyte-Lugo², Eduardo Zúñiga-León³, Facundo Rivera-Becerril⁴, Alejandro Azaola^{3*}.

¹Maestría en Ecología Aplicada, UAM-Xochimilco. ²Catedrática CONACYT comisionada al Departamento de Sistemas Biológicos, UAM-Xochimilco, ³Departamento de Sistemas Biológicos, UAM-Xochimilco, ⁴Departamento El Hombre y su Ambiente, UAM-Xochimilco.

*azaola@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: iChip, UFC, Bacterias no cultivables

INTRODUCCIÓN:

Las bacterias son microorganismos que colonizan todo tipo de ambientes, intervienen en diferentes procesos metabólicos e interacciones ecológicas. La producción de metabolitos secundarios (MS) de interés para la medicina, la agricultura, la farmacéutica, entre otros, ha sido un factor importante para desarrollar nuevas tecnologías enfocadas en el aislamiento, cultivo y estudio de nuevas bacterias.

El aislamiento de bacterias ha sido un reto para la comunidad científica; el conteo en placa es uno de los métodos más aplicados para explorar una diminuta parte de la diversidad existente (<1%) (Rivera Urbalejo et al., 2020). Sin embargo, en los últimos años, tratando de profundizar en el conocimiento de la gran diversidad de bacterias en diferentes ambientes, se han explorado nuevas formas de aislamiento bacteriano que a su vez han ido evolucionado, y que han permitido aislar bacterias denominadas no cultivables.

Las nuevas técnicas se enfocan en el aislamiento unicelular a partir de diluciones, citometría de flujo, micromanipulación, microfluidos y compartimentación. Estas técnicas de aislamiento unicelular se pueden aplicar para tres propósitos principales en microbiología y biotecnología: (1) cultivar microbios no cultivados previamente; (2) evaluar y monitorear la fisiología y función celular; y (3) detectar nuevos productos microbiológicos como enzimas y antibióticos (Ishii et al., 2010).

También se han experimentado nuevos enfoques para el aislamiento y cultivo de bacterias que comprenden la incubación *in situ*, proceso que permite el aprovechamiento de nutrientes y productos metabólicos presentes en el medio. Un ejemplo de estas nuevas metodologías es el trabajo de Nichols y colaboradores (2010), quienes reportaron el aislamiento de bacterias no cultivables mediante el uso del iChip, un dispositivo diseñado para evitar que las bacterias escapen, pero permitiendo, desde el entorno, la difusión de los nutrientes y metabolitos para su crecimiento. Este nuevo método ha permitido el aislamiento de microorganismos novedosos, incrementando el conocimiento de la diversidad bacteriana, su papel dentro de los ecosistemas, así como explorar la producción de MS potencialmente útiles en diferentes industrias como la farmacéutica, alimentaria y agrícola.

OBJETIVO: Implementar y optimizar el uso del iChip para el aislamiento y cultivo de bacterias cultivables y no cultivables a partir de muestras de sustrato de turba del género *Sphagnum* (Peat Moss).

MATERIALES Y MÉTODOS: La investigación planteó optimizar las condiciones de manejo del iChip, técnica *in situ* para el aislamiento bacteriano de alto rendimiento a partir de muestras de suelo (Nicols et al., 2010; MacIntyre et al., 2019).

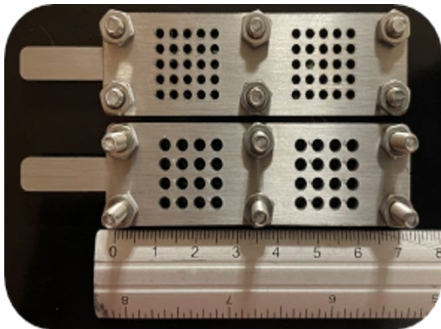


Figura 1. Chip de aislamiento (iChip), para el cultivo microbiano *in situ* de alto rendimiento. Diseño del Laboratorio de Biotecnología (N-104, UAM-Xochimilco) basado en Nichols y colaboradores (2010).

El iChip es un conjunto de tres placas que contienen múltiples pozos coincidentes (Figura 1). En una de las placas se depositan las bacterias para su cultivo, protegiéndolas con membranas para que estas no escapen, pero permitiendo la difusión de nutrientes y metabolitos.

La estandarización de la metodología se realizó utilizando muestras de turba de musgo del género *Sphagnum* (Peat Moss Premier Tech Horticulture) y constó de tres fases: la primera, mediante el enfoque de dilución hasta extinción (Kim et al., 2021) se prepararon diluciones del sustrato de 10^{-1} hasta 10^{-6} . De cada dilución se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) bacterianas con el fin de establecer la dilución adecuada a inocular en cada pozo del iChip.

La segunda fase estuvo orientada en el manejo y estandarización del iChip; para verificar que el ensamblaje y sellado del dispositivo funcionara adecuadamente y evitar la contaminación microbiana proveniente del medio de incubación (Peat Moss).

En la tercera fase, mediante microscopía, se verificó la pureza de las cepas bacterianas aisladas y se hizo un análisis de cada cepa para evitar duplicidad. El análisis comprendió tres pruebas enzimáticas (amilasas, proteasas, lipasas), así como solubilización de fosfatos y producción de ácido indolacético, fitohormona natural más común de la clase de las auxinas, que controla diversos procesos fisiológicos como la elongación y división celular, la diferenciación de tejidos y las respuestas a la luz. Adicionalmente, se realizó la extracción de ADN total de las cepas bacterianas seleccionadas, la amplificación por PCR y la secuenciación del gen 16S ADNr para su identificación molecular.

RESULTADOS:

El conteo de UFC bacterianas permitió elegir la dilución 10^{-4} como la mejor opción de inoculación en el cada pozo del iChip al registrar valores de entre 0 y 1 UFC en 5 μ l (capacidad de cada pozo). La selección de la dilución fue para asegurar que solo una célula quedara atrapada en cada pozo del iChip.

Se estandarizó el proceso para el ensamblaje, pegado de membranas y sellado del iChip, lo que derivó en el aislamiento de 56 microorganismos.

El análisis enzimático, fisiológico y la descripción morfológica permitieron descartar las bacterias con características similares. En total se identificaron 34 cepas diferentes de las 56 aisladas. De estas, la mayoría dio valores positivos en la producción de catalasa, dos cepas produjeron valores mayores a 40 μ g/ml de ácido indolacético y 9 solubilizaron fosfatos. Se realizó la extracción de ADN, la amplificación por PCR y la secuenciación del gen 16S ADNr de 18 bacterias.

CONCLUSIONES:

Los resultados muestran al iChip como un dispositivo prometedor para el aislamiento de bacterias denominadas “no cultivables”, al permitir la difusión de nutrientes y metabolitos secundarios presentes en el medio. Sus diferencias visibles con los microorganismos aislados por conteo de placa y sus actividades enzimáticas permiten pensar en la obtención de posibles organismos de interés ecológico y biotecnológico gracias al iChip. Una de las ventajas más significativas del iChip es la pureza de las cepas aisladas por esta técnica.

BIBLIOGRAFÍA

Ishii, S., Tago, K., Senoo, K., 2010. Single-cell analysis and isolation for microbiology. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1281-1292. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2524-4>

MacIntyre, L.W., Haltli, B.A., Russell, C., 2019. Draft genome sequence of *Alteromonas* sp. strain RKMC-009, isolated from *Xestospongia muta* via in situ culturing using an isolation chip diffusion chamber. *Microbiol Resource Announcements*, 8(25). <https://doi.org/10.1128/MRA.00508-19>

Kim, S., Islam, M.R., Kang, I., Cho, J.C., 2021. Cultivation of dominant freshwater bacterioplankton lineages using a high-throughput dilution-to-extinction culturing approach over a 1-year period. *Front. Microbiol*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.700637>

Nicols, D. et al., 2010. Use of ichip for high-throughput in situ cultivation of "uncultivable" microbial species. *Applied and environmental microbiology*, 76(8), 2445-2450. <https://doi.org/10.1128/AEM.01754-09>

Rivera Urbalejo, A. et al., 2020. Aportes y dificultades de la metagenómica de suelos y su impacto en la agricultura. *Acta biológica colombiana*, 26(3), 449-461

EFFECTO DEL SUMINISTRO DE ADITIVOS POLIHERBALES A
CORDEROS: UNA MIRADA DESDE LA COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA
DE LA COMUNIDAD MICROBIANA RUMINAL

María Eugenia de la Torre Hernández^{1,*}, Hugo César Ramírez-Saad^{2,4}, Germán David Mendoza Martínez^{3,4}.
¹CONACYT-UAM Xochimilco; ²Departamento Sistemas Biológicos, UAM-X; ³Departamento Producción Agrícola y Animal, UAM-X; ⁴Doctorado en Ciencias Agropecuarias, UAM-X.

*Autor de correspondencia: María Eugenia de la Torre Hernández
Correo: (mdelatorre@correo.xoc.uam.mx)

Palabras clave: Microbioma ruminal, comportamiento productivo, ovinos.

INTRODUCCIÓN: En el ámbito de la ganadería, en muchos países se está restringiendo el uso de compuestos sintéticos como promotores del crecimiento y antibióticos por sus efectos nocivos en humanos y animales, al mismo tiempo, se está potenciando el uso de aditivos elaborados a partir de plantas, mismos que contienen compuestos bioactivos con efectos benéficos en el comportamiento productivo de los animales, en específico, de los rumiantes (vacas, cabras y ovejas).

Las mezclas herbales que se utilizan como aditivos alimentarios contienen metabolitos secundarios como fenoles, flavonoides, alcaloides, isocianatos, taninos, saponinas, terpenoides, etc. y se han utilizado como fuentes naturales de vitaminas, como estimulantes de la producción de hormona del crecimiento y de la síntesis de proteínas -por lo que permiten la ganancia de peso, así como la mejora en la calidad de la carne-, además de que tienen efectos positivos en el sistema inmunológico -previniendo enfermedades, disminuyendo así el uso de antibióticos-.

La comunidad microbiana presente en el rumen es importante puesto que es capaz de metabolizar los nutrientes contenidos en la dieta de los animales, así como en los aditivos herbales, incrementando en el flujo de proteína y otros nutrientes al intestino, lo cual facilita el crecimiento y contribuye a mejorar el comportamiento productivo de los rumiantes, además de que podría reducir la producción de metano; sin embargo, los efectos de los metabolitos secundarios vegetales parecen ser dependientes de la dosis y de la fuente de la que se obtuvieron, por lo que es importante identificar estas variables.

OBJETIVO (S): El objetivo de este estudio fue investigar la asociación que existe entre la composición y estructura del microbioma ruminal, con algunas variables productivas en corderos en finalización, como respuesta al tratamiento con aditivos polihierbales ricos en antioxidantes, compuestos fenólicos y flavonoides

MATERIALES Y MÉTODOS:

Tratamiento: Se alimentaron 38 ovejas con dietas altas en grano (56% en promedio), 19 de ellas suplementadas con aditivos polihierbales en dosis que se han reportado como efectivas para mejorar el comportamiento productivo de los animales (1-4).

Toma y manejo de muestras: las variables de comportamiento productivo evaluadas fueron: ganancia diaria de peso (g), peso corporal final (kg), consumo de materia seca (g) y

conversión alimenticia. Se obtuvieron muestras de líquido ruminal de los animales a través de una sonda esofágica, mismas que se filtraron y se utilizaron para extraer DNA metagenómico de cada una de ellas. Los DNAs se evaluaron en cuanto a concentración, pureza e integridad, y se estandarizaron para someterse a secuenciación masiva de la región V3-V4 del gen 16S rRNA, en la plataforma *Illumina™ MySeq* (Zymo Research, Irvine, CA); se utilizaron *primers* que permiten identificar diferencialmente poblaciones bacterianas y de arqueas metanogénicas.

Análisis del microbioma: a partir de las secuencias crudas obtenidas se infirieron las variantes de secuencia de amplicones únicos (ASVs) con el uso de *DADA2* (5), que también se utilizó para eliminar secuencias quiméricas. La asignación taxonómica se hizo con *Uclust* de Qiime v.1.9.1 (6). El análisis de la composición de la comunidad, así como de la diversidad alfa, también se realizaron con Qiime v.1.9.1.

Análisis estadístico: Los datos de comportamiento productivo y porcentaje de abundancia relativa de los grupos microbianos encontrados en el rumen (a nivel de Familia) fueron analizados con el uso de *STEPWISE* (SAS Institute Inc., Cary, NC, United States) para estimar ecuaciones de regresión múltiple que correlacionaran estos parámetros.

Los análisis de varianza de una sola vía (ANOVA) y las comparaciones de medias de Tukey se hicieron con el software *JMP14 PRO* (SAS Institute Inc., Cary, NC, United States).

RESULTADOS:

El procesamiento completo de las secuencias incluyó el recorte de extremos de baja calidad, remoción de secuencias quiméricas y filtración por tamaño, como se resume en la Tabla 1.

Tabla 1. Resumen del procesamiento de secuencias de muestras de DNA metagenómico ruminal, provenientes de ovejas control y suplementadas con aditivos poliherbales

Tipo de muestra	Lecturas crudas (R1+R2)	ASVs	# Final de secuencias
Control	1457016	660913	608992
Poliherbal	1565586	713336	658779
TOTAL	3022602	1374249	1267771

Se utilizó el menor número de secuencias obtenidas en una muestra individual (15,113) para normalizar los datos y calcular el estimador de riqueza Chao1 y los índices de: equidad de Shannon y diversidad de Simpson (Tabla 2).

Tabla 2. Análisis de diversidad alfa de las comunidades microbianas presentes en muestras de líquido ruminal de ovejas control y suplementadas con polihierbales

Muestra	Chao1	Shannon	Simpson-e
Control	239± 62.6	6.4±0.6	0.18±0.02
Poliherbal	246±92.2	6.4±0.73	0.18±0.017

Las comunidades microbianas ruminales de los animales control y tratados con polihierbales tienen valores de riqueza, equidad y diversidad similares. El ANOVA ($n = 38$; $p < 0.05$) no mostró diferencias estadísticas significativas en estos parámetros.

Se identificaron 12 grupos microbianos a nivel de Familia que mostraron porcentajes de abundancia relativa mayores al 1% (Figura 1): Methanobacteriaceae, Coriobacteriaceae, Prevotellaceae, Rikenellaceae, Christensenellaceae, Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Erysipelotrichaceae, Acidaminococcaceae, Veillonellaceae, Succinivibrionaceae y Orden Bacteroidales, sin asignación de Familia. Se agruparon como “Otros” todas aquellas Familias bacterianas cuya abundancia relativa fue menor a 1%.

Se detectaron diferencias estadísticamente significativas en los porcentajes de abundancia de las Familias Ruminococcaceae ($p < 0.10$), que disminuyó 0.7 veces respecto al control, y Succinivibrionaceae ($p < 0.05$), que aumentó 1.7 veces respecto al control, sin embargo, no se detectó la asociación de estas variaciones con la conversión alimenticia en el grupo tratado, posiblemente debido al coeficiente de variación de los resultados (0.70).

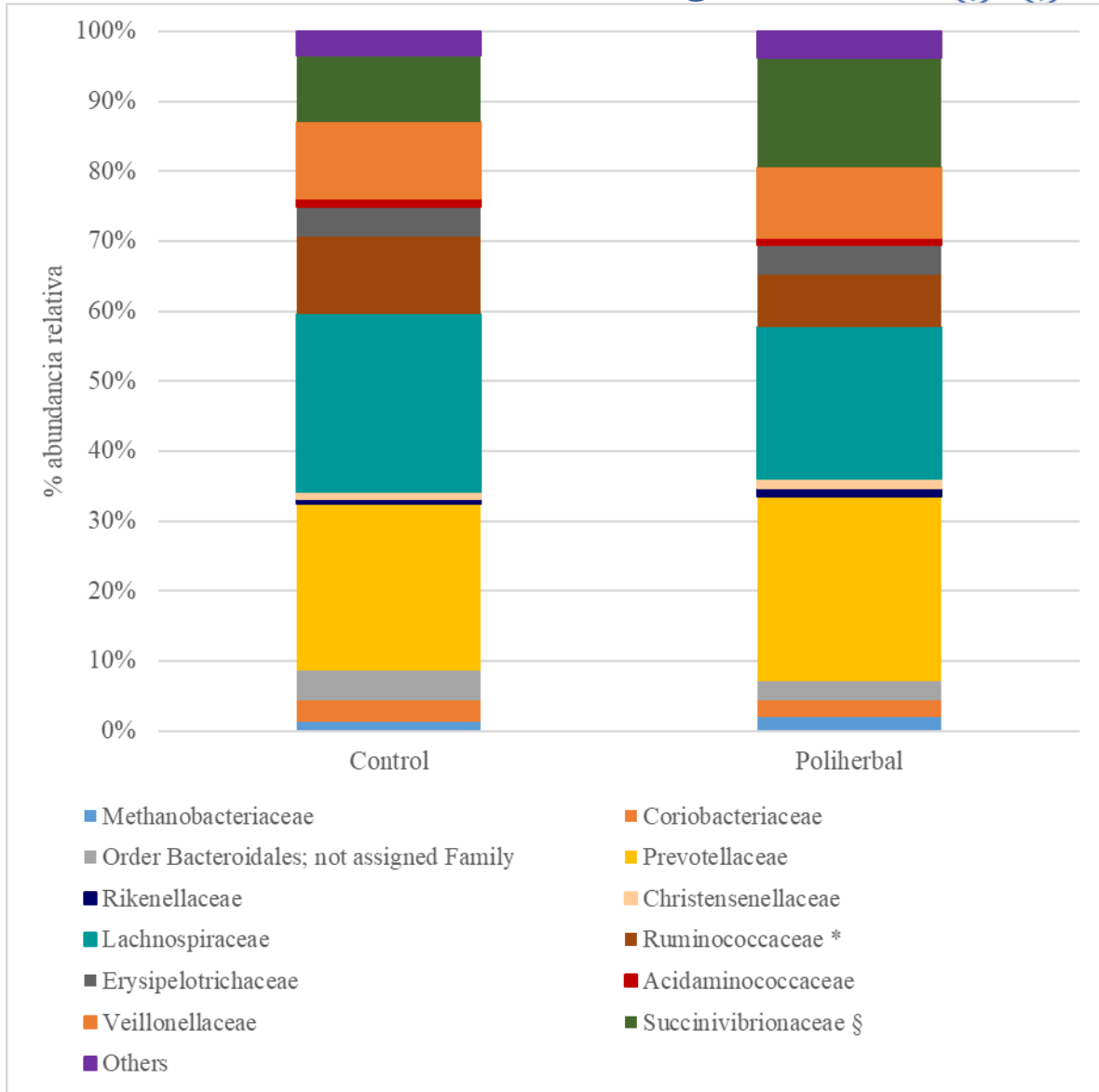


Figura 1. Composición y estructura de las comunidades microbianas ruminales (a nivel de Familia) de ovejas control y suplementadas con aditivos poliherbales. Se señalan las familias que mostraron diferencias estadísticamente significativas: * ($p < 0.10$), § ($p < 0.05$).

Se identificaron 7 Familias microbianas con posibles efectos sobre el comportamiento productivo de las ovejas estudiadas al presentarse correlaciones positivas entre:

- Methanobacteriaceae y ganancia diaria de peso, independientemente del tratamiento ($p=0.02$, control; $p=0.001$, tratamiento)
- Coriobacteriaceae y ganancia diaria de peso, sólo en el grupo control ($p=0.02$)
- Lachnospiraceae y el consumo de materia seca, así como con el peso corporal final, independientemente del tratamiento ($p=0.002$, control; $p=0.004$, tratamiento; $p=0.05$, control; $p=0.03$, tratamiento, respectivamente)

- Christensenellaceae y el consumo de materia seca, independientemente del tratamiento ($p=0.002$, control; $p=0.004$, tratamiento)
- Ruminococcaceae y conversión alimenticia en el grupo control ($p=0.01$)
- Succinivibrionaceae y conversión alimenticia en el grupo control ($p=0.01$)
- Erysipelotrichaceae y conversión alimenticia en el grupo tratado con aditivos poliherbales ($p=0.008$)

CONCLUSIONES:

Puesto que suele relacionarse a las arqueas metanogénicas con menor ganancia de peso en rumiantes, llama la atención el resultado obtenido en este estudio, por lo que se propone el estudio a profundidad de la relación que se establece entre protozoarios y arqueas en el rumen, en particular en respuesta a dietas altas en granos y/o a la inclusión de aditivos herbales ricos en metabolitos secundarios capaces de modificar esta interacción.

Los miembros de la Familia Coriobacteriaceae se han reconocido como productores de acetato, por lo que su disminución con el tratamiento polih herbal podría explicar el incremento de propionato reportado previamente con este tipo de tratamientos (7), lo que tendrá una repercusión en la ganancia de peso de los animales.

La relación positiva observada entre la conversión alimenticia de corderos no suplementados con polih herbales y la abundancia relativa de las Familias Ruminococcaceae y Succinivibrionaceae no era esperada, debido a que algunos miembros de la familia Ruminococcaceae participan en la digestión de fibra en el rumen y las dietas altas en grano contienen poca fibra; también se ha reportado que la presencia de metabolitos secundarios vegetales, como flavonoides y antocianinas, puede estimular a las poblaciones de bacterias fibrolíticas (8), sin embargo, en este estudio, el tratamiento polih herbal provocó la disminución de estas dos Familias bacterianas, quizá por acumulación de ácido láctico en el rumen, proveniente de la fermentación ruminal de los sustratos vegetales (9).

Se ha documentado la actividad celulolítica de la Familia Erysipelotrichaceae (10-11), lo que explicaría su asociación positiva con el consumo de forraje; además, también se ha reportado que se incrementa su abundancia en animales que emiten menos metano (12); aunque existe poca información disponible al respecto, resulta prometedor el estudio de las interacciones ruminales que involucren a esta familia, así como el de sus actividades metabólicas.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Razo-Ortiz, *et al. J. Appl. Animal Res.* **2020**, 48(1), 419-4242020.
2. Lozano-Sánchez, *et al. Rev. Bras. Zoot.* **2021**, 50:e202001662021.
3. Orzuna-Orzuna, *et al. Animals.* **2021**, 11, 955.
4. Dorantes-Iturbe, *et al. Metabolites.* **2022**, 12, 4132022.
5. Callahan, *et al. Nat. Methods.* **2016**, 13, 581-3.2016.
6. Caporaso, *et al. Nat. Methods.* **2010**, 7, 335-3362010.
7. Razo-Ortiz, *et al. Indian J. of Animal Res.* **2022**, 10.18805/IJAR.BF-1530
8. Yanza, *et al., J. Animal Sci. Biotech.* **2022**, 13(1), 1-19.
9. Elmhadi, *et al. Anim. Nutr.* **2022**, 10, 148-155.
10. Koike, *et al., Appl. Env. Microbiol.* **2010**, 76(6), 1887-1894.
11. Zhang *et al., RSC Adv.* **2017**, 7, 40303-40310.



***IX Congreso del Departamento
de Sistemas Biológicos***

12. Kittelmann, *et al.*, *PloS one*. **2014**, 9(7), e1031171.



ÓSFERA DE *ECHINOCACTHUS PLATYACANTHUS*.

L. I. Salinas-Virgen¹, M. E. de la Torre-Hernández², J. F. Aguirre-Garrido³, H. C. Ramírez-Saad^{4*}

¹Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, 04960 Ciudad de México, México. ²CONACYT-Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, 04960 Ciudad de México, México. ³Departamento de Ciencias Ambientales, Universidad Autónoma Metropolitana-Lerma, 52004 Estado de México, México. ⁴Departamento Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, 04960 Ciudad de México, México.

*Autor de correspondencia:

Correo: (huras@correo.xoc.uam.com.mx)

Palabras clave: Rizósfera, cactáceas, PGPR, genómica, bioinformática.

INTRODUCCIÓN:

Las *Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal* (PGPR por sus siglas en inglés) poseen gran interés en el campo agroecológico dado que se asocian a las plantas y favorecen su crecimiento y desarrollo a través de las diferentes actividades metabólicas que realizan (1). Estas actividades metabólicas, llamadas mecanismos de promoción de crecimiento, pueden ser directos como la fijación de nitrógeno, la producción de fitohormonas, la solubilización de P y K, la producción de sideróforos y de compuestos orgánicos volátiles; o indirectos como el biocontrol de fitopatógenos, inducción de resistencia sistémica, competencia y desplazamiento (2).

Las PGPR asociadas a cactáceas como *E. platyacanthus* resultan interesantes dado que se encuentran en ambientes extremos propios de las regiones áridas que habitan estas plantas y se presume que aumentan su capacidad adaptativa y de sobrevivencia en estos ambientes (3); considerando que un gran número de cactáceas como *E. platyacanthus* se encuentran en un estatus de riesgo a su supervivencia (4, 5, 6), el uso de PGPRs podría ser una medida de conservación deseable (1). sin embargo, actualmente existen pocos estudios sobre la asociación de las cactáceas con bacterias de este tipo.

Por otro lado, se sabe que bacterias pertenecientes al mismo género o incluso a la misma especie pueden tener variaciones en las actividades PGPR que realizan (7), estas variaciones pueden ser debidas al estadio celular en el que se encuentre la bacteria (8), o por modificaciones producidas por las interacciones entre el genoma y el ambiente (9). Dadas por características adaptativas que conllevan la adquisición de nuevas secuencias genéticas o el reordenamiento de las ya existentes, generando diversidad genética y fenotípica (10).

De aquí parte la importancia de realizar una caracterización fenotípica completa de las bacterias PGPR que poseen potencial para aumentar la capacidad adaptativa y de supervivencia de las cactáceas a las que se asocian, y evaluar qué diferencias genéticas existen entre cepas de una misma especie, que generan variación en sus características

fenotípicas con la finalidad de comprender el vasto universo de las interacciones planta-microorganismo.

OBJETIVO (S):

Caracterización bioquímica y genómica de bacterias aisladas de la rizósfera de *E. Platyacanthus*, y determinar las diferencias genéticas entre cepas de la misma especie que producen variación en las actividades PGPR que realizan.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Aislamiento, agrupación e identificación de los aislados.

Las cepas fueron aisladas de la rizósfera de *Echinocactus platyacanthus*, en el semidesierto de Querétaro, México, cultivadas en medio líquido TY (triptona 5g/L, extracto de levadura 3g/L, CaCl₂ 1g/L, Agar 1.2% para medio sólido) y criopreservadas en glicerol al 50%. El agrupamiento del total de cepas aisladas se realizó mediante un análisis de restricción enzimática (REA) del gen 16S rRNA, previamente amplificado por PCR con los primers 8F y 1492R (11). En adición, secuenció dicho gen con la empresa MACROGEN en Corea, y las secuencias obtenidas mediante un análisis bioinformático se usaron para la identificación taxonómica de cada cepa por comparación con la base de datos de EZTAXON (12).

Evaluación de actividades PGPR.

Las actividades PGPR que se evaluaron fueron la producción de indoles, la solubilización de fosfatos, el biocontrol de hongos fitopatógenos y la producción de sideróforos, esta evaluación se llevó a cabo sembrando las bacterias en medio selectivo dependiendo de cada actividad. La producción de Indoles y la solubilización de fosfatos se evaluaron en medio Burk (Glucosa 10 g/L, KH₂PO₄ 0.41 g/L, K₂HPO₄ 0.52 g/L, NaCl 0.05 g/L, CaCl₂ 0.2 g/L, MgSO₄·7H₂O 0.1 g/L y FeSO₄ 0.005 g/L; pH 6.8) y NBRIP (Glucosa 10 g/L, Ca₃(PO₄)₂ 5 g/L, MgCl₂·6H₂O 5 g/L, MgSO₄·7H₂O 0.35 g/L, KCl 0.2 g/L y (NH₄)₂SO₄ 0.1 g/L; pH 7) respectivamente, haciendo un análisis colorimétrico; el biocontrol de hongos fitopatógenos se realizó midiendo porcentajes de inhibición en un cultivo dual del hongo *Fusarium solani* vs cada bacteria en estudio en medio PDA (Agar papa-dextrosa BD Bioxon 39 g/L) y la producción de sideróforos se determinó por la producción de halos de quelación formados en medio LB-CAS (medio LB 900 mL, Peptona de Caseína 10 g/L, NaCl 10 g/L; Cromo azulol S 50 mL concentración de 1.21 mg/mL, 10 mL de solución de los iones metálicos concentración 56 mg/L en HCl 10 mM y CTAB 40 mL concentración 1.82 mg/mL) (13).

Evaluación in planta.

Se seleccionaron las 11 cepas que exhibieron las mejores características PGPR y se evaluaron mediante la inoculación de plántulas de *Arabidopsis thaliana*, ecotipo Columbia (Col-0), sin modificaciones genéticas (Wild type), con una suspensión bacteriana [1.6x10⁷ UFC/mL] de cada cepa en estudio; adicionalmente se empleó como control negativo un

grupo de plántulas inoculadas con agua destilada estéril. Las plántulas se trasplantaron a macetas de polipapel de 6.5 x 6.5 x 8.5 cm (largo x ancho x alto) que contenían una mezcla de suelo compuesta por: peat moss, agrolita y vermiculita, en proporciones 3:1:1:1, respectivamente, misma que fue previamente tinalizada en autoclave y se colocaron en una cámara de crecimiento con un fotoperiodo de 16 h de luz por 8 h de oscuridad, a una temperatura de $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 6 semanas. Se registraron los parámetros de crecimiento porcentaje de supervivencia, tiempo de aparición del tallo principal, tiempo de aparición de los tallos secundarios, número de tallos, tiempo de aparición de inflorescencias, número de inflorescencias, presencia de hojas caulinares, diámetro de la roseta, altura de cuerpo aéreo y se realizó un análisis de varianza y un análisis de diferencia de medias de Tukey con los valores obtenidos en la última semana de medición (7).

Caracterización genómica.

Se seleccionaron pares de cepas que pertenecieran a la misma especie y exhibieran características PGPR diferenciales para secuenciar sus genomas en la plataforma *Illumina Myseq*. El ensamble de novo se hizo con el software *Geneious prime* (14), la calidad del ensamble se hizo con el software *QUAST* (15), la anotación en la plataforma *RAST* (16) y con el software *PROKKA* (17), y el análisis de genómica comparativa con el alineador *Mauve* (18).

RESULTADOS:

Se aislaron un total de 268 cepas bacterianas que se dividieron en 45 grupos por análisis de restricción enzimática, se seleccionó un representante de cada grupo para hacer una identificación bacteriana a través del gen 16S rRNA, la cual indicó que las bacterias pertenecían principalmente a los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas*, aunque también fue posible encontrar otros géneros como *Stenotrophomonas* y *Paenibacillus* (11).

Por otro lado, la evaluación PGPR in vitro de las 45 cepas representativas de los grupos obtenidos por REA indicó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los resultados obtenidos, todas las cepas son capaces de producir indoles, solubilizar fosfato y ejercer control biológico sobre *F. solani* en diferentes medidas; para el caso de la producción de sideróforos, existen diferentes casos dado que hay cepas capaces de quelar todos los iones metálicos que se probaron, otras que solo pueden capturar algunos de ellos y algunas otras que no producen sideróforos como es el caso de las cepas pertenecientes al género *Bacillus* (13).

Gracias a los resultados obtenidos de las actividades PGPR fue posible seleccionar 11 cepas que mostraron las mejores características para hacer la evaluación in planta de la cual se pudo determinar que existen diferencias estadísticamente significativas entre los resultados obtenidos de los diferentes parámetros evaluados en las plantas sometidas a los diferentes tratamientos. Con estos resultados se pudo determinar que cepas resultaron más benéficas para las plantas, siendo tres las que presentaron los mejores resultados (7), se buscaron sus contrapartes en la colección de cepas considerando que pertenecieran a la misma especie y que presentaran menos actividad PGPR de acuerdo con su caracterización, y se les envió a

secuenciar el genoma completo para realizar el ensamblaje y la anotación de cada uno así como realizar un análisis de genómica comparativa entre pares de cepas de la misma especie.

Hasta el momento se cuenta con el ensamblaje y la anotación completos del genoma de una de las cepas en estudio, que, de acuerdo con una identificación basada en genoma se trata de una cepa de la especie *Pseudomonas atacamensis* que posee un gran número de genes relacionados a la promoción del crecimiento. Los otros genomas están en proceso de ensamblado.

CONCLUSIONES:

De las 268 cepas aisladas inicialmente se obtuvieron 45 grupos de los cuales se seleccionó un representante, las pruebas PGPR realizadas indicaron que cada uno de estos representantes tienen capacidades PGPR distintas y 11 de ellas tienen las mejores características de promoción de crecimiento. Estas 11 cepas fueron probadas *in planta* y se compararon con dos controles, uno negativo y uno positivo, los tratamientos con las bacterias en estudio presentaron mejores resultados que el control negativo y algunos de ellos fueron equiparables con los resultados obtenidos por el control positivo lo que indica que estas bacterias son capaces de ejercer un efecto benéfico en las plantas.

De las 11 cepas probadas *in planta* destacan 3 que exhibieron los mejores resultados, de la secuenciación de sus genomas y de sus contrapartes se pudieron obtener librerías genómicas que servirán para el ensamblaje del genoma de cada bacteria y la respectiva anotación funcional de los mismos, así como la comparación y determinación de diferencias genómicas que impacten en sus características PGPR.

Uno de los genomas ya ha sido ensamblado y anotado en su totalidad y fue posible determinar, por un lado, que pertenece al género *Pseudomonas* especie *atacamensis* y por el otro que posee un gran número de genes relacionados a quimiotaxis y movilidad, metabolismo de potasio, adquisición y metabolismo de iones metálicos, por mencionar algunos, y que a su vez están relacionados con la promoción del crecimiento de plantas; cabe mencionar que el género *Pseudomonas* posee múltiples reportes como PGPR.

BIBLIOGRAFÍA:

1. DE-BASHAN, L. E., HOLGUIN, G., GLICK, B. R., BASHAN, Y., FERRERA-CERRATO, R., & ALARCÓN, R. (2007). Bacterias promotoras de crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales. Microbiología agrícola: Hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, planta-microorganismo. México: Editorial Trillas, 170-224.
2. CASTAÑO, A. M. P., DURANGO, D. P. M., POLANCO-ECHEVERRY, D., & ARIAS, J. A. C. (2021). Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR): Una revisión sistemática 1990-2019. Revista de Investigación Agraria y ambiental, 12(2), 161-178.
3. PUENTE, M. E. (2004). Poblaciones bacterianas endófitas y del rizoplasma de plantas del desierto degradadoras de roca y su efecto sobre el crecimiento del cardón. Tesis de Doctorado en Ciencias en el Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
4. CITES (2019). <https://www.cites.org/esp/app/appendices.php#>. Fecha de consulta: febrero de 2020.

5. SEMARNAT. (2010). NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5173091
6. IUCN (2019). The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2019-3. <http://www.iucnredlist.org>. Downloaded on 10 December 2019.
7. **SALINAS-VIRGEN, L. I. (2019)**. Identificación y caracterización de la actividad PGPR de bacterias rizosféricas y endófitas aisladas de *Echinocactus platyacanthus* (biznaga dulce) creciendo en condiciones silvestres y de invernadero en el semidesierto queretano. Tesis de Maestría en Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.
8. BISTUE, A. S. (2018). Hacia la reprogramación de crecimiento bacteriano mediante edición genómica: la bioinformática puesta a prueba. *Química Viva*, 2, 13-22.
9. MOLLERACH, M. (2006). Genómica y Proteómica: oportunidades y desafíos para la Microbiología. *Revista argentina de microbiología*, 38(1), 1-3.
10. MARTÍNEZ RODRÍGUEZ, L. (2014). El genoma del endosimbionte diazotrófico *Sinorhizobium meliloti* GR4: dispersión natural y aplicación biotecnológica de nuevos intrones del grupo II. Tesis doctoral en la Universidad de Granada.
11. **SALINAS-VIRGEN, L. I., DE LA TORRE HERNÁNDEZ, M. E., GARRIDO, J. F. A., & SAAD, H. C. R. (2020)**. Caracterización molecular de bacterias rizosféricas asociadas a *Echinocactus platyacanthus* en invernadero y silvestres. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(3), 531-542.
12. YOON, S. H., HA, S. M., KWON, S., LIM, J., KIM, Y., SEO, H., & CHUN, J. (2017). Introducing EzBioCloud: A taxonomically united database of 16S rRNA and whole genome assemblies. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 67:1613-1617.
13. **DE LA TORRE-HERNÁNDEZ, M. E., SALINAS-VIRGEN, L. I., AGUIRRE-GARRIDO, J. F., FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, A. J., MARTÍNEZ-ABARCA, F., MONTIEL-LUGO, D., & RAMÍREZ-SAAD, H. C. (2020)**. Composition, Structure, and PGPR Traits of the Rhizospheric Bacterial Communities Associated with Wild and Cultivated *Echinocactus platyacanthus* and *Neobuxbaumia polylopha*. *Frontiers in Microbiology*, 11, 14.
14. KEARSE M, MOIR R, WILSON A, STONES-HAVAS S, CHEUNG M, STURROCK S, BUXTON S, COOPER A, MARKOWITZ S, DURAN C, THIERER T, ASHTON B, MEINTJES P, DRUMMOND A. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28:1647–1649.
15. GUREVICH A, SAVELIEV V, VYAHHI N, TESLER G. 2013. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics*. 2013 Apr 15;29(8):1072-5. doi: 10.1093/bioinformatics/btt086. PMID: 23422339; PMCID: PMC3624806.
16. AZIZ, R.K., BARTELS, D., BEST, A.A. et al. 2008. The RAST Server: Rapid Annotations using Subsystems Technology. *BMC Genomics* 9, 75. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-75>
17. SEEMANN, T. 2014, Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*, 30(14):2068-9. PMID:24642063
18. DARLING AC, MAU B, BLATTNER FR, PERNA NT. Mauve: multiple alignment of conserved genomic sequence with rearrangements. *Genome Res*. 2004 Jul;14(7):1394-403. doi: 10.1101/gr.2289704. PMID: 15231754; PMCID: PMC442156

CORRELACIÓN DE MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS Y NIVELES DE ADIPOQUINAS DE UNA POBLACIÓN JOVEN UNIVERSITARIA CON DIETA HABITUAL

Karla Jacqueline Reyes Duran¹, Pedro A. Reyes-Castillo², Martha Leyte-Lugo³, Alejandro A. Azaola-Espinosa⁴, Raquel González-Vázquez^{5*} y Lino Mayorga-Reyes⁶

1. Laboratorio de Biotecnología, Licenciatura en Químico Farmacéutico Biológico, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México 04960, México; jacqueline.reyes1999@gmail.com .
2. *Laboratorio de Biotecnología, Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México 04960, México; pirotreyes08@gmail.com
3. Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Sistemas Biológicos, CONACYT-Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México 04960, México.; mleyte@correo.xoc.uam.mx
4. Laboratorio de Biotecnología, Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México 04960, México; azaola@correo.xoc.uam.mx
5. *Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Sistemas Biológicos, CONACYT-Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México 04960, México; rgonzalezv@correo.xoc.uam.mx
6. Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México 04960, México; lmayorga@correo.xoc.uam.mx

Pedro A. Reyes-Castillo y Raquel González-Vázquez
pirotreyes08@gmail.com y rgonzalezv@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Obesidad, medidas antropométricas, dieta, insulina y leptina.

INTRODUCCIÓN:

La obesidad se considera un problema de salud grave que afecta a una proporción significativa de personas de todas las edades en todo el mundo [1]. La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la obesidad como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede perjudicar la salud [2]. La obesidad es un estado de inflamación crónica caracterizada por un exceso de tejido adiposo [3]. El tejido adiposo es un órgano metabólico y endocrino, responsable del almacenamiento de energía y la secreción de moléculas biológicamente activas (adipoquinas), incluyendo hormonas (leptina), citoquinas (IL-6 y TNF- α), quimiocinas (IL-8 y MCP-1), factores de crecimiento (nervio factor de crecimiento [NGF], HGF) y otros [4]. La función principal de las adipoquinas es regular el apetito, el equilibrio energético, la deposición de grasa, la homeostasis de la glucosa, el metabolismo de los lípidos, la inmunidad, la sensibilidad a la insulina, angiogénesis, procesos inflamatorios y la presión arterial [5]. Por otro lado, un nivel elevado de leptina y marcadores inflamatorios (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8 y MCP-1)

en suero se ha asociado con la obesidad. La leptina es una de las principales adipocinas que influyen en la ingesta de alimentos, el peso corporal y la homeostasis energética [6]. La concentración de leptina es variable y aumenta en relación con el aumento del tejido adiposo. Sin embargo, los estudios muestran que la leptina concentración en suero puede ser modificada por macronutrientes (ácidos grasos, carbohidratos y proteínas). Por otro lado, la ingesta de nutrientes tiene una influencia directa en el aumento de peso y, en consecuencia, sobre el IMC, la grasa corporal y otras medidas antropométricas, impactando en los niveles de adipocinas.

OBJETIVO (S):

Evaluar los parámetros antropométricos, indicadores de salud, adipocinas y niveles de insulina en una población de jóvenes universitarios con una dieta habitual.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Selección de la población: En este estudio, se invitaron a participar a 378 adultos jóvenes universitarios entre 18-22 años de la Universidad Autónoma Metropolitana –Unidad Xochimilco en la Ciudad de México. De los cuales 117 jóvenes fueron excluidos por alcoholismo, tabaquismo, embarazo, período menstrual, uso de antibióticos, narcóticos, lactancia, diarrea y vegetarianismo o veganismo; 171 no asistieron y solo 90 asistieron al estudio antropométrico y completaron el cuestionario sobre la frecuencia de consumo de alimentos. Para la determinación de parámetros bioquímicos y adipocinas, se pareo la población por edad, sexo e IMC.

Análisis antropométrico: El índice de masa corporal (IMC) se midió de acuerdo a los criterios de la OMS (delgado ≤ 25 kg/m², sobrepeso 25-30 kg/m² y obeso ≤ 30 kg/m²) [2]. Se determinó la circunferencia de la cintura (CC) y la cadera para calcular la relación cintura-cadera (WHR) y la relación cintura-altura (WHtR). El porcentaje de grasa corporal (BFP) y el área de grasa visceral (VFA) se determinaron mediante análisis de impedancia bioeléctrica multifrecuencia segmentaria (SMF-BIA) utilizando un Inbody 720 Biospace, Seúl, Corea.

Análisis dietético: La información dietética se realizó por un cuestionario semicuantitativo de frecuencia de consumo de alimentos (FFQ). El cuestionario se utilizó para determinar la energía total ingesta, proporción de proteínas, carbohidratos, lípidos, minerales y vitaminas en la dieta de todos los participantes durante el año anterior. La estimación e interpretación de nutrientes la ingesta se determinó mediante el software SNUT y las tablas de composición de energía y nutrientes, desarrollada y validada por el Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) [7].

Análisis bioquímico: Se recogió una muestra de sangre en ayunas después de un ayuno de 12 horas. El suero se obtuvo por centrifugación a 2000-3500 rpm durante diez minutos y almacenado a -20 °C hasta su análisis. Análisis bioquímico incluía glucosa, triglicéridos, colesterol total y lipoproteínas de alta densidad; todas las biomoléculas se determinaron por

Analizador Bioquímico Ikem (Kontrollab, México), y los resultados fueron en comparación con la referencia [8,9].

Análisis de adipocinas: Las muestras de suero se utilizaron para determinar leptina, TNF α , IL-6, IL-8, MCP-1, HGF e insulina. Todos los componentes se ensayaron con el panel de microesferas magnéticas de adipocinas humanas MILLIPLEX MAP 2 (Millipore, EE. UU.) Endocrine Multiplex Assay kit y se analizó con el MAGPIX® (Luminex, EE. UU.).

Análisis estadístico: Las diferencias significativas en datos antropométricos, sangre, adipocinas y análisis dietético entre individuos delgados, con sobrepeso y obesos fueron determinadas por Kruskal-Wallis ($p \leq 0.05$) y la prueba de múltiples comparaciones de Dunn usando el software GraphPad Prism versión 5.01. Las correlaciones entre los niveles de adipocinas, parámetros antropométricos y nutrientes se evaluaron en toda la población sin estratificación. Todos los datos se normalizaron elevándolos al cuadrado, antes de realizar el análisis de correlación de Pearson ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS:

En la Cuadro 1 se muestra la composición corporal promedio de los grupos estudiados. En donde no se encontraron diferencias significativas en la altura para cada sexo ($159,6 \pm 14,8$ mujeres y $171,2 \pm 6,2$ hombres). Como se esperaba, el IMC fue diferente ($p \leq 0.05$) entre delgados y obesos en ambos sexos. Además, WHR, WHtR, BFP y VFA aumentaron a medida que aumentaba el IMC (Cuadro 1). Según CC, mujeres y hombres obesos, mostraron un riesgo de enfermedades cardiovasculares debido a los valores mostrados. El porcentaje de grasa corporal (BFP) también fue diferente entre mujeres delgadas sobrepeso y delgadas y obesas ($p \leq 0,05$); en los hombres se encontraron diferencias ($p \leq 0,05$) entre delgados y obesos. Los sujetos con sobrepeso y obesos de ambos sexos mostraron mayor BFP a lo recomendado, lo que confirma el estado nutricional de los individuos, ya que el IMC no considera la cantidad de grasa en el cuerpo. Mujeres y hombres con sobrepeso y obesos mostraron un valor de VFA más alto que la recomendación (usuario de Inbody 720 manual) (Cuadro 1). El WHR fue significativamente diferente entre hombres y mujeres delgados y obesos. Además, las mujeres y los hombres obesos mostraron valores superiores a los recomendados, lo que indica riesgo de enfermedades cardiometabólicas. Por otro lado, no hay diferencias significativas entre los individuos obesos y con sobrepeso de WHtR de ambos sexos en comparación con individuos delgados (Cuadro 1). Además, el sobrepeso y obesos de ambos sexos presentaban riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares. En el caso del HOMA-IR, ambos sexos presentaron valores superiores a las recomendaciones, excepto para el grupo de hombres delgados.

En este trabajo para estudiar la composición corporal de la población, utilizamos BFP, VFA y SMM; también se utilizaron como indicadores de la distribución de grasa. En general, la población obesa mostró los valores más altos de BFP y VFA, lo que podría aumentar los riesgos para la salud y el metabolismo. En cuanto a SMM, se observó que a medida que aumentaba el IMC, SMM disminuía, mientras que BFP y VFA aumentaban. En definitiva, en cuanto a las medidas antropométricas, aunque se encontraron diferencias en la composición corporal entre mujeres y hombres delgados y obesos, los grupos con sobrepeso se encontraban en un estado intermedio entre delgados y obesos. Esto indica que

existe una alta posibilidad de que en un futuro cercano su condición nutricional se transforme a obesidad si no cambian sus hábitos nutricionales y estilo de vida. Los valores bioquímicos obtenidos estuvieron dentro de los rangos recomendados. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en los niveles de leptina entre delgados y obesos en

Cuadro 1. Medidas antropométricas y parámetros bioquímicos de la población de estudio

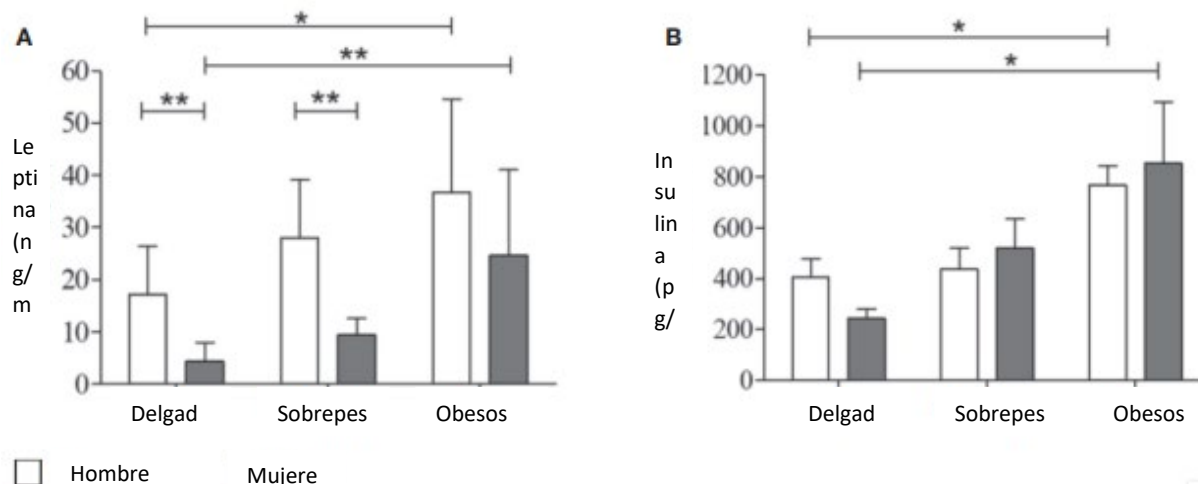
	Mujeres			Hombres		
	Delgados	Sobrepeso	Obesos	Delgados	Sobrepeso	Obesos
Altura (cm)	158±4	155±15	162±4	170±49	167±7	172±4
Peso (Kg)	54±6 ^b	71±11 ^{ab}	92±16 ^a	63±6 ^b	80±7 ^{ab}	104±11 ^a
IMC (kg/m²)	21±2 ^b	28±2 ^{ab}	35±5 ^a	22±1 ^b	28±1 ^{ab}	35±3 ^a
CC (cm)	73±7 ^b	85±7 ^{ab}	102±17 ^a	79±6 ^b	92±6 ^{ab}	111±11 ^a
WHR	0.81±0.03	0.80±0.05	0.86±0.06	0.86±0.05	0.89±0.02	0.96±0.10
WHtR	0.46±0.04 ^b	0.53±0.04 ^{ab}	0.62±0.1 ^a	0.47±0.04 ^b	0.55±0.04 ^{ab}	0.64±0.1 ^a
BFP (%)	26±8 ^b	39±2 ^{ab}	48±4 ^a	15±7 ^b	23±12 ^{ab}	42±7 ^a

ambos sexos (figura 1A); no se encontraron diferencias significativas entre mujeres y hombres obesos. Además, los niveles de leptina aumentaron junto con el IMC. La figura 1B muestra diferencias significativas en los niveles de insulina entre delgados y obesos mujeres y hombres. Los niveles de leptina e insulina aumentaron con BFP (Cuadro 1 y Fig. 1A y B). Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en los niveles de marcadores inflamatorios IL-6, IL-8, MCP-1 y TNF- α y HGF, entre mujeres sobrepeso y obesas y hombres en comparación con individuos delgados.

VFA (cm ²)	48±14 ^b	90±15 ^{ab}	145±42 ^a	55±15 ^b	98±12 ^{ab}	163±30 ^a
SMM (%)	40±6 ^b	33±1 ^{ab}	29±2 ^a	48±4 ^b	41±3 ^{ab}	33±4 ^a
BMC (kg)	2±0.2 ^b	2±0.3 ^b	3±0.6 ^a	3±0.4	3±0.4	3±0.5

IMC: índice de masa corporal; CC: circunferencia de cintura; WHR: relación cadera-cintura; WHtR: relación cintura-estatura; BFP: porcentaje de grasa corporal; VFA: área de grasa visceral; SMM: masa muscular esquelética; BMC: contenido mineral óseo. Letras diferentes significan diferencia ($p \leq 0.05$) entre grupos del mismo género. El símbolo ¶, indica que estos valores fueron altos de acuerdo a los rangos normales para la población mexicana.

Figura 1A niveles de leptina; 1B niveles de insulina



El análisis de correlación entre los niveles de leptina e insulina con parámetros antropométricos e indicadores de salud se muestra en cuadro 2. Las otras adipoquinas no mostraron correlaciones. Por otro lado, la resistencia a la insulina también se calculó según HOMA-IR. Se encontró un valor de HOMA-IR de 4.3 y 5.0 para obesos mujeres y hombres, respectivamente, que es superior a la referencia para la población joven mexicana. Además, mujeres delgadas y con sobrepeso y los hombres con sobrepeso mostraron el mismo comportamiento. Esto indica que la masa grasa y los niveles de insulina podrían ser los principales determinantes de los niveles de leptina sérica en adultos. Además, este estudio mostró una correlación significativa entre la leptina y HOMA-IR ($r^2=0.41$) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Correlación entre adipoquinas y medidas antropométricas

	Leptin	Insulin
Weight	0.60*	0.45*
BMI	0.67*	0.37*
PBF	0.75*	0.40*
VFA	0.66*	0.48*
WHR	0.11	0.43*
WHtR	0.67*	0.42*
HOMA-IR	0.41*	0.91*

CONCLUSIÓN:

El uso de indicadores de salud como VFA, WC, WHR, WHtR y HOMA-IR es una herramienta útil en la determinación de la salud riesgo y estos indicadores se correlacionan con los niveles de leptina e insulina en la población estudiada, lo que probablemente podría deberse a BFP y la alta ingesta de grasas de los alimentos. Si los hábitos nutricionales de los grupos de estudio no se modifican, estos niveles podrían mantenerse y, en el futuro, conducir a una disminución en el estado saludable.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Williams EP, Mesidor M, Winters K, Dubbert P, Wyatt SB. Overweight and obesity: prevalence, consequence and causes of a growing public health problem. *Curr Obes Rep.* 2015;4(3):363-70.
2. World Health Organisation (WHO). Obesity and overweight; 2016. Available in: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/> [accessed 01.06.17].
3. Blancas-Flores G, Almanza-Pérez JC, López-Roa RI, Alarcón-Aguilar FJ, García-Macedo R, Cruz M. La obesidad como un proceso inflamatorio. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 2010;67(2):88-97.
4. Coelho M, Oliveira T, Fernandes R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Arch Med Sci.* 2013;9(2):191-200.
5. Jung UJ, Myung-Sook Choi. Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidaemia and non-alcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci.* 2014;15:6184-223.
6. Myers MG, Cowley MA, Münzberg H. Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Annu Rev Physiol.* 2008;70:537-56.
7. Hernández-Ávila JE, González-Avilés L, Rosales-Mendoza E. Manual de usuario. SNUT Sistema de evaluación de hábitos nutricionales y consumo de nutrimentos. INSP, México; 2003.
8. Lam BCC, Koh GCH, Chen C, Wong MTK, Fallows SJ. Comparison of body mass index (BMI), body adiposity index (BAI), waist circumference (WC), waist-to-hip ratio (WHR) and waist-to-height ratio (WHtR) as predictors of cardiovascular disease risk factors in an adult population in Singapore. *PLoS ONE.* 2015;10(4):e0122985.
9. Adebamowo CA, Ogundiran TO, Adenipekun AA, Oyesegun RA, Campbell OB. Waist-hip ratio and breast cancer risk in urbanized Nigerian women. *Breast Cancer Res.* 2015;5(2):R18-R24.

ALGORITMO BIOINFORMÁTICO PARA CARACTERIZAR FAMILIAS DE GENES: IDENTIFICANDO GENES DE LA FAMILIA DEL FACTOR DE VIRULENCIA EGH16 EN *Beauveria bassiana*

Gerardo González Padilla¹, Leticia Martínez Esquivel¹, Juan esteban Barranco Florido¹, Eduardo Zúñiga León^{1*}.
[†]Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, Departamento de sistemas Biológicos.

*Autor de correspondencia:

Correo: (jezuniga@correo.xoc.uam.mx)

Palabras clave: Algoritmo bioinformático, subfamilias de genes, factor de virulencia Egh16.

INTRODUCCIÓN: Una familia de genes se compone de secuencias homólogas funcional y estructuralmente relacionadas [1]. El estudio individual de genes sigue siendo un enfoque ampliamente usado para caracterizar familias. Estos estudios funcionales pueden resultar complejos cuando los genes de la familia presentan regiones altamente conservadas, sin embargo, la identificación de regiones únicas dentro de estos genes puede resolver este problema. El factor de virulencia Egh16 comprende una familia de genes encontrada en hongos fitopatógenos y entomopatógenos, principalmente [2]. Los estudios sobre la familia Egh16 son limitados. Nuestro grupo de trabajo ha desarrollado un algoritmo bioinformático para identificar y caracterizar genes en especies no secuenciadas usando genomas de referencia.

OBJETIVO (S):

- 1) Desarrollar un algoritmo bioinformático para identificar regiones únicas en familias de genes homólogos para su aplicación en biomedicina y biotecnología.
- 2) Identificar y caracterizar *in silico* y por PCR de la familia de genes Egh16 en el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*.

MATERIALES Y MÉTODOS: Para este trabajo se usó el aislado CHE-CNRCB-546 de *B. Bassiana* donado por el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB). Esta cepa no se encuentra secuenciada, la única información disponible es la zona geográfica del aislamiento y el hospedero que infecta. Se desarrolló un algoritmo en lenguaje de programación Python usando los módulos: math, pandas, matplotlib, scipy, numpy y collections. El algoritmo fue validado *in silico* e *in vivo* (**Figura 1**). La validación *in silico* se realizó de dos maneras: i) la primera consistió en identificar k-meros compartidos entre subfamilias de genes, y ii) la segunda consistió en un Blastn de las regiones únicas identificadas por el algoritmo contra los genomas de cinco cepas de *B. bassiana* secuenciadas y depositadas en la base de datos NCBI. Finalmente, la validación *in vivo* consistió en la realización de una PCR usando un par de *primers* generados por el algoritmo empleando ADN genómico del aislado CHE-CNRCB-546 de *B. Bassiana*.

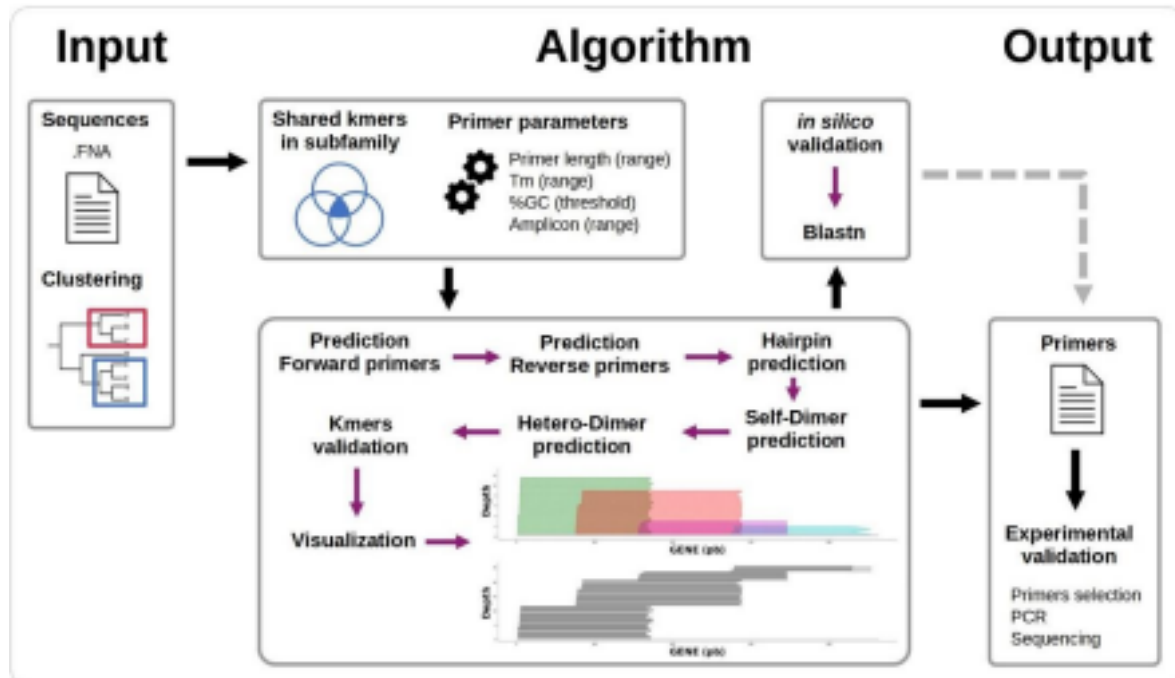


Figura 1. Algoritmo bioinformático.

RESULTADOS: El algoritmo bioinformático permite identificar regiones únicas y específicas dentro de subfamilias de genes. Estas regiones son idóneas para diseñar *primers* exclusivos de subfamilia, sin el riesgo de obtener falsos positivos. El algoritmo permite diseñar *primers* usando parámetros preestablecidos como temperatura de fusión, contenido de GC, formación de autodímeros y heterodímeros, y estabilidad del extremo 3'. El tiempo de respuesta del algoritmo fue corto permitiendo obtener una familia de *primers* en menos de un minuto. La validación por Blastn permitió probar si los *primers* se unen de forma específica a las subfamilias de genes. Como parte de la validación *in vivo* las secuencias fueron secuenciadas por el método de Sanger, y las secuencias obtenidas fueron sometidas a un análisis filogenético para agrupar los genes en función de la homología de secuencias (Figura 2).

CONCLUSIONES: Se realizó un análisis *in silico* en cepas de *Beauveria bassiana* y se identificó la existencia de hasta cuatro subfamilias del factor de virulencia Egh16. El algoritmo bioinformático desarrollado en este trabajo permitió identificar *in vivo* el gen BB CHE-CNRCB-546-001-Egh16 perteneciente a una subfamilia de la familia Egh16 en el aislado CHE-CNRCB-546 de *B. Bassiana*, el cual no se encuentra secuenciado. Este algoritmo puede ser usado para identificar y caracterizar genes en especies no secuenciadas.

ANÁLISIS DE LA LONGITUD TELOMÉRICA Y NÚMERO DE COPIAS DE DNA MITOCONDRIAL EN PACIENTES CON TRASTORNOS PSICÓTICOS

Blanca Estela Pérez Aldana¹, Luis Enrique Hernández reyes², Alberto Ortega Vázquez³, Ernesto Soto Reyes⁴, Nancy Monroy Jaramillo², Marisol López López^{3*}.

¹Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana; ²Departamento de Genética, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Manuel Velasco Suárez; ³Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco; ⁴Departamento de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Cuajimalpa

*Autor de correspondencia: Dra. Marisol López López
Correo: mlopez@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Longitud telomérica, DNA mitocondrial, clozapina, trastornos psicóticos.

INTRODUCCIÓN: Los trastornos psicóticos se han asociado con una mayor mortalidad¹ y existe evidencia de que los pacientes con esquizofrenia presentan envejecimiento acelerado². Por otro lado, se ha reportado que el tratamiento con antipsicóticos como clozapina (CLZ) podría retrasar el envejecimiento manteniendo la longitud telomérica (LT)³ y la función mitocondrial⁴. Sin embargo, los resultados son controversiales por lo que es importante ampliar la investigación en este sentido.

OBJETIVO (S): Evaluar la LT y el número de copias de DNA mitocondrial (mtDNA-CN) con la respuesta al tratamiento con CLZ en pacientes con trastornos psicóticos.

SUJETOS Y MÉTODOS: Siguiendo las consideraciones éticas correspondientes con el protocolo INNN_38/19, se incluyeron 58 pacientes con trastornos psicóticos bajo tratamiento con CLZ y 58 controles pareados por edad y sexo (sujetos sanos sin antecedentes de enfermedades neurológicas y psiquiátricas). Los pacientes se clasificaron en respondedores y no respondedores de acuerdo con el porcentaje de reducción global de síntomas a la semana 18 medido por PANSS. La LT y el mtDNA-CN de leucocitos se analizaron mediante qPCR y el método $\Delta\Delta CT$. El análisis estadístico se realizó mediante prueba U de Mann-Whitney y la correlación entre estos biomarcadores con el *software* R.

RESULTADOS: La comparación de la LT entre pacientes y controles mostró diferencias significativas en la LT (Figura 1A) obteniendo un valor $W = 639$, con una $p=0.003676$. Con respecto al mtDNA-CN también se encontraron diferencias significativas entre pacientes y controles (Figura 1B). En el análisis de U de Mann-Whitney se obtuvo un valor $W = 582$ y

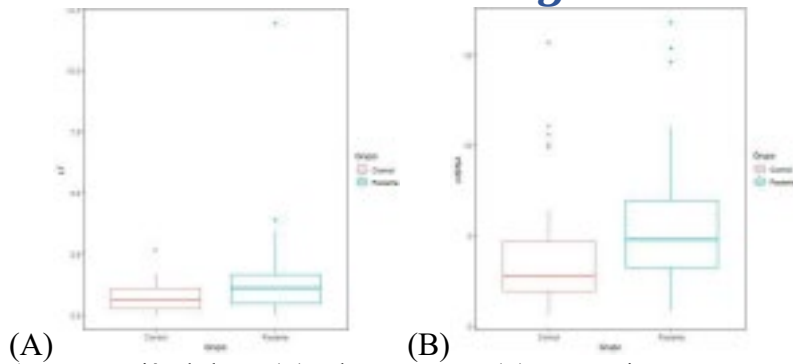


Figura 1. Comparación de la LT (A) y de mtDNA-CN (B) entre pacientes con trastornos psicóticos bajo tratamiento con CLZ y controles.

En cuanto a la respuesta, no se observaron diferencias significativas en la LT y el mtDNA-CN entre los pacientes respondedores y no respondedores. Ambos marcadores de envejecimiento mostraron una correlación negativa y no significativa ($r=-0.16$, $p>0.05$).

CONCLUSIONES: La LT y el mtDNA-CN fueron mayores en pacientes vs. controles, lo cual podría sugerir que la CLZ modula estos marcadores de envejecimiento. Es necesario realizar estudios futuros en pacientes tratados con otros antipsicóticos y/o en pacientes sin tratamiento.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Higgins-Chen AT, Boks MP, Vinkers CH, Kahn RS, Levine ME. **2020**, Schizophrenia and Epigenetic Aging Biomarkers: Increased Mortality, Reduced Cancer Risk, and Unique Clozapine Effects. *Biol Psychiatry*. 88(3):224-235.
2. Wolkowitz OM, Jeste DV, Martin AS, Lin J, Daly RE, Reuter C, Kraemer H. **2017**. Leukocyte telomere length: Effects of schizophrenia, age, and gender. *J Psychiatr Res*.85:42-48.
3. Monroy-Jaramillo N, Rodríguez-Agudelo Y, Aviña-Cervantes LC, Roberts DL, Velligan DI, Wals-Bass C. **2017**. Leukocyte telomere length in Hispanic schizophrenia patients under treatment with olanzapine. *J Psychiatr Res*. 90:26-30.
4. Amiri S, Dizaji R, Momeny M, Gauvin E, Hosseini MJ. **2021**. Clozapine attenuates mitochondrial dysfunction, inflammatory gene expression, and behavioral abnormalities in an animal model of schizophrenia. *Neuropharmacology*. 187:108503.

AISLAMIENTO DE BACTERIAS DE SUELO POR DOS MÉTODOS

Alondra Berenice González Flores¹, Mónica Núñez Jiménez¹, Alejandro Azaola¹, Eduardo Zúñiga-León¹, Martha Leyte-Lugo^{2*}.

¹Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Sistemas Biológicos, UAM-Xochimilco, ²Catedrática CONACYT comisionada al Departamento de Sistemas Biológicos, UAM-Xochimilco

*Autor de correspondencia: Martha Leyte-Lugo

Correo: (mleyte@correo.xoc.uam.mx)

Palabras clave: actinomicetos, suelo, iChip.

INTRODUCCIÓN:

Los microorganismos juegan un papel esencial en todos los ambientes, intervienen en el reciclaje de toda la materia orgánica, participan en todos los ciclos biogeoquímicos, en la reconstitución del suelo, en el tratamiento de aguas, en la producción de metabolitos necesarios como sustratos para otros microorganismos o para otras especies, en la producción de vitaminas para las especies animales y de fitohormonas para los vegetales, entre otros. Debido a las funciones y propiedades que poseen, las bacterias se han convertido en uno de los principales objetos de estudio en el área biotecnológica. Una de las problemáticas a las que nos enfrentamos es que aún se conoce muy poco sobre la biodiversidad de los diferentes ecosistemas, entre ellos el suelo, del cual se estima que menos del 1% de los microorganismos son cultivables en el laboratorio (Singh y Macdonald 2010; Montaña Arias et al., 2018), lo que ha llevado al desarrollo de nuevas tecnologías para el aislamiento, obtención y caracterización de nuevas cepas bacterianas, que pueden ser aprovechadas para el desarrollo biotecnológico.

El método tradicional de aislamiento, que consiste en el sembrado sobre un medio de cultivo gelificado, permite la obtención de cepas cuyos requerimientos nutricionales y condiciones físicas de crecimiento no son estrictas. Sin embargo, los resultados sólo son el reflejo de aquellas bacterias que tienen la capacidad de reproducirse rápidamente bajo esas condiciones y/o que pueden inhibir el crecimiento de otras (Benítez, 2021). Adicionalmente, el sobrecrecimiento y la competencia por los nutrientes desfavorece la obtención de cepas de lento crecimiento y que tienen requerimientos nutricionales específicos o estrictos.

Para intentar mejorar la profundidad de los aislamientos y obtener mejores resultados, la idea de mimetizar el entorno natural fue una idea fundamental en el desarrollo de distintos métodos, dando resultados notables. La forma más sencilla consiste en realizar el aislamiento “*in situ*”, como con el I-Tip o el iChip (Chip de aislamiento), que permiten realizar aislamientos en el propio ecosistema (Nichols et al., 2010; Jung et al., 2014). El iChip a través de una matriz con microcompartimentos que impiden el paso de las bacterias, pero permiten el intercambio de nutrientes y señales químicas entre los distintos microorganismos y también en el medio (Nichols et al., 2010; Lohdi et al., 2018). Además, el iChip está diseñado para que cada pozo inoculado con la muestra contenga una sola

Unidad Formadora de Colonia (UFC), disminuyendo el fenómeno de inhibición y sobrecrecimiento anteriormente atribuidos al asilamiento en placa de Petri.

OBJETIVO:

El objetivo del presente trabajo es estudiar el método de aislamiento tradicional y el método de aislamiento del iChip para obtener cepas puras a partir de muestras de suelo productoras de sustancias bioactivas de interés biotecnológico.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se aislaron bacterias a partir de una muestra de sustrato comercial (Premier® Peat Moss) utilizando dos métodos de aislamiento. El primer método consistió en realizar diluciones decimales seriadas hasta extinción para el conteo y obtención de UFC. Una vez realizadas las diluciones, se procedió al sembrado en agar nutritivo. Los ensayos se realizaron por triplicado. Posteriormente se seleccionaron colonias aisladas y se resembraron hasta obtener cepas puras.

En el segundo método de aislamiento se utilizó el iChip: conjunto de tres placas planas (una central y dos externas) que contienen múltiples orificios que coinciden entre ellas. La placa central se inocula con la dilución seleccionada (10^{-5} y 10^{-6} , la cual garantiza al menos la presencia una célula) y se cubre con membranas y las placas externas para evitar que las células escapen (Nichols et al. 2010) (**Figura 1**). Posterior al tiempo de incubación, *in situ*, el iChip se desmonta y se realiza el traslado de cada pozo a cajas Petri con agar nutritivo para la incubación y crecimiento del microorganismo aislado.

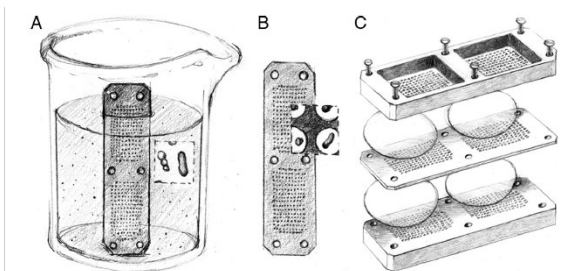


Figura 1. Chip de aislamiento (iChip) para el cultivo microbiano *in situ* de alto rendimiento. (A) Placa con múltiples orificios en una suspensión de células para la captura (en promedio) de una sola célula (B). (C) Las membranas por cada lado cubren el conjunto de orificios. Imagen tomada de Nichols y colaboradores (2010).

Cada una de las cepas aisladas fue descrita según sus características morfológicas y bioquímicas: tamaño de la colonia, color, borde, forma, elevación, consistencia, producción de enzimas (amilasas, fosfatasa, lipasas y proteasas) y ácido indolacético (AIA). Además, se realizó tinción de Gram para detectar la forma y agrupación celular.

La producción de agentes antimicrobianos por las bacterias aisladas se llevó a cabo en caja Petri, exponiéndolas a los patógenos de prueba y evaluando el efecto inhibitorio.

RESULTADOS:

Se obtuvo un total de 26 cepas aisladas: 18 cepas por método tradicional de sembrado en caja Petri, y 8 cepas utilizando el iChip. De las dieciocho cepas aisladas con el método tradicional, dos cepas pertenecen a actinomicetos (bacterias filamentosas Gram positivas de lento crecimiento) y dieciséis a bacterias no filamentosas, mientras que, de las cepas obtenidas con el iChip, seis pertenecen a actinomicetos y dos a bacterias no filamentosas.

La caracterización bioquímica permitió identificar cepas productoras de enzimas, solubilizadoras de fosfato y productoras de ácido indolacético. Adicionalmente, cinco bacterias inhibieron el crecimiento de diferentes bacterias patógenas (**Tabla 1**).

Tabla 1. Caracterización bioquímica (producción de enzimas y AIA) y actividad antimicrobiana.

Método de aislamiento	Cepas productoras de enzimas				Productoras de AIA	Cepas inhibidoras de bacterias patógenas
	Amilasa	Lipasa	Fosfatasa	Proteasa		
Sembrado en placa	2	9	8	0	1	4 cepas inhibidoras de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
iChip	4	0	5	0	0	1 cepa inhibidora de <i>Sarcina lutea</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>

El iChip permitió aislar bacterias puras de rápido y lento crecimiento con requerimientos nutricionales medianamente estrictos, debido a que esta técnica permite complementar el medio de cultivo utilizado con los nutrientes y otras sustancias presentes en el suelo que pasan por difusión a través de la membrana. Además, el iChip está diseñado para que cada pozo contenga una sola UFC, lo que aumenta la probabilidad de aislar bacterias que, en los métodos tradicionales de aislamiento, pueden ser inhibidas por otras bacterias de rápido crecimiento.

El método tradicional de sembrado en caja Petri permitió aislar un mayor número de cepas. A pesar de ser un método rápido y fácil, una vez que se inocularon con las diluciones se tuvo que resembrar cada cepa hasta confirmar la pureza. Otro aspecto importante de este método es que las cepas obtenidas son aquellas que crecen bajo las condiciones utilizadas en el laboratorio.

CONCLUSIONES:

El aislamiento por ambos métodos permitió la obtención de bacterias con diferentes características, cada método proporciona condiciones distintas de crecimiento, como la disponibilidad de nutrientes y la interacción con otros microorganismos, que favorece o discrimina el desarrollo de cierto grupo de bacterias.

El análisis preliminar de cada cepa proporciona información de aquellas que podrían ser consideradas para estudios biológicos y químicos más profundos para su uso en el desarrollo de productos biotecnológicos.

BIBLIOGRAFÍA:

- Benites, X. 2021. Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Madrid. <http://hdl.handle.net/10486/696661>
- Jung et al. 2014. *FEMS Microbiology Ecology*, 90. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12399>.
- Lohdi et al. 2018. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9193-0>
- Montaño Arias et al. 2018. *Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva*, 25. <https://doi.org/10.30878/ces.v25n3a9>
- Nichols et al. 2010. *Applied and Environmental Microbiology*, 76. <https://doi.org/10.1128/AEM.01754-09>
- Singh B.K. y Macdonald C.A. 2010. *Drug Discovery Today*, 15. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2010.07.002>

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LOS AEROSOLES ATMOSFÉRICOS EN EL SUR DE LA CIUDAD DE MÉXICO

Karla Lizbeth Hernández Valdés ^a, Luis Antonio Ladino Moreno ^b, Javier Miranda Martín del Campo ^c, Alejandro Azaola Espinoza ^d, Harry Alvarez Ospina ^{e*}.

^a Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, Ciudad de México, México.

^b Instituto de Ciencias de la Atmósfera y Cambio Climático, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

^c Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

^d Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, Ciudad de México, México

^e Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

*Autor de correspondencia: harryalvarez@ciencias.unam.mx

Palabras clave: Aerosol atmosférico, Ciudad de México, Microfísica de nubes, PM_{2.5}, Partículas nucleantes de hielo.

INTRODUCCIÓN

En la atmósfera existe una gran cantidad y diversidad de contaminantes, los cuales tienen distintas repercusiones en el clima, la salud y los ecosistemas, siendo esta última afectada principalmente por la alteración de los ciclos naturales (Ciclos biogénicos), como el del carbono, azufre, fósforo etc. (SEMARNAT, 2009). La contaminación atmosférica se define como la alteración de la composición natural de la atmósfera como consecuencia de la presencia de gases y suspensión de partículas, ya sea por causas naturales o por la acción del hombre (Morales, 2006). Dentro de los contaminantes se destacan las partículas sólidas, también conocidas como partículas suspendidas, aeropartículas, material particulado (del inglés particulate matter) y aerosoles atmosféricos, siendo este último el nombre más común entre la comunidad científica (Pope y Dockery, 2006; Manzanares *et al.*, 2011).

En los últimos 20 años se ha estudiado la contaminación en la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM), con el objetivo de reducir la concentración de contaminantes suspendidos en la atmósfera. Sin embargo, debido a la ubicación geográfica de la ZMVM, se favorece la acumulación de los contaminantes debido a la escasa circulación de vientos y la dispersión de los contaminantes. Así mismo, el continuo desarrollo demográfico e industrial obliga a la metrópoli a extender sus fronteras a los límites de áreas ecológicas protegidas, resultando en el incremento del deterioro de la calidad del aire (Hidalgo-Reyes, 2016).

Durante la última década, el gobierno mexicano ha logrado avances significativos en la mejora de la calidad del aire. Sin embargo, los residentes de la ZMVM siguen expuestos a concentraciones de contaminantes transportados por el aire que exceden los estándares de calidad del aire ambiental, especialmente PM y ozono, los dos contaminantes más importantes desde el punto de vista de la salud pública (Molina *et al.*, 2010). Por esta razón, es necesario realizar una caracterización química con el fin de observar los principales compuestos y poder atribuir fuentes.

OBJETIVO: El objetivo general del presente trabajo consistió en realizar la caracterización química (composición elemental e iones inorgánicos solubles en agua) de las partículas $PM_{2.5}$ al sur de la Ciudad de México mediante el empleo de diversas técnicas analíticas (Fluorescencia de Rayos X y Cromatografía de Intercambio Iónico).

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de muestreo

Durante el período comprendido del 12 al 21 de mayo del 2022, se realizó una campaña de medición de contaminantes atmosféricos en la azotea del Instituto de Ciencias de la Atmósfera y Cambio Climático de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), mismo que se encuentra ubicado en la zona suroeste de la Ciudad de México, en las coordenadas de latitud 19.3262° N, longitud 99.1761° W. Este sitio de muestreo esta caracterizado principalmente por estar rodeado de edificios académicos, así como de áreas verdes, como la Reserva del Pedregal de San Ángel que se encuentra ubicada a 1.4 km de la estación. Además de que se caracteriza por tener un bajo flujo vehicular y constante de autobuses y/o autos particulares. Sin embargo, a 650 m se localiza la Avenida Antonio Delfín Madrigal donde de manera constante hay tránsito de vehículos, camiones pesados y motocicletas (Hidalgo-Reyes, 2016; Vega, 2022).

Periodo de muestreo

Las muestras $PM_{2.5}$ de aerosol atmosférico fueron recolectadas en filtros de cuarzo y teflón haciendo uso de impactadores MiniVol (AirMetrics) con cabezales de $2.5 \mu m$ durante periodos de muestreo de 24 horas, desde las 8:00 a.m.-9:00 a.m. hasta las 8:00 a.m.-9:00 a.m. del siguiente día, del 12 al 21 de mayo de 2022. Así mismo, se realizó la recolección de aerosol atmosférico haciendo uso de un impactador de cascada MOUDI (Micro-Orifice Uniform Deposit Impactor, por sus siglas en inglés), durante periodos de muestreo de 5 horas aproximadamente, del día 12 al 20 de mayo del 2022.

Equipos de muestreo

- Impactador MiniVol

El MiniVol TAS (Tactical Air Sampler, Airmetrics) es un equipo portátil empleado para realizar muestreos de material particulado atmosférico. Este equipo funciona como una bomba de succión, controlada por un temporizador programable, que puede configurarse para realizar ciclos de muestreo de 24 horas o hasta de una semana.

En este equipo, el aire muestreado pasa por un cabezal $PM_{2.5}$, en el cual las partículas mayores a $2.5 \mu m$ chocan con un plato de impactación ubicado en la parte inferior del fragmentador, mientras que las menores o iguales a $2.5 \mu m$ siguen las líneas de flujo y son depositadas sobre un sustrato, de teflón o de cuarzo, según sea el caso (Hidalgo-Reyes, 2016).

- MOUDI

Se realizó la recolección de partículas presentes en la atmósfera por impacto inercial haciendo uso de un impactador de cascada MOUDI. Este equipo consta de ocho etapas para separar partículas en función de su diámetro aerodinámico (tamaños de corte de 0.18, 0.32, 0.56, 1.0, 1.8, 3.2, 5.6 y $10.0 \mu m$). En este equipo, cada etapa posee un plato de impactación, sobre el cual se coloca un sustrato

de aluminio, y son asegurados o fijados mediante imanes impidiendo que se muevan durante el muestreo. Adicionalmente al equipo se le adapta una bomba de vacío externa, la cual permite tomar una muestra de aire de la atmósfera continuamente con un flujo constante, para asegurar que las partículas de aerosol puedan ser colectadas a bajas velocidades de flujo y a su vez evitar caídas excesivas de presión (Alvarez-Ospina, 2009; Córdoba *et al.*, 2021).

Datos de contaminantes atmosféricos

Las variables de contaminantes atmosféricos como O₃, CO, SO₂, NO, NO₂, NO_x, PM_{2.5}, se obtuvieron de la Red Automática De Monitoreo Atmosférico (RAMA), instalada en la UNAM. La obtención de estos datos fue con la finalidad de plantear comparaciones entre los datos obtenidos de las mediciones realizadas durante la campaña de muestro y los datos obtenidos por la RAMA, en caso necesario.

Datos meteorológicos

Las variables meteorológicas como temperatura, humedad relativa, radiación, dirección y velocidad del viento se obtuvieron de la estación meteorológica de la Red Universitaria de Observatorios Atmosféricos (RUOA), instalada en la UNAM.

Tratamiento de los filtros

A los filtros de teflón y cuarzo utilizados en los MiniVol durante la campaña de muestreo se le realizó un tratamiento previo a su uso, con la finalidad de eliminar la mayor cantidad de impurezas que pudieran contener y así, evitar errores en los análisis químicos a realizar posteriormente.

- Filtros de teflón

Para el tratamiento de los filtros de teflón se llevó a cabo un lavado, tanto de los filtros como de las cajas Petri en los que serían depositados los filtros, con agua desionizada. Para posteriormente realizar un secado en campana de flujo laminar durante 3 horas aproximadamente. Posteriormente, fueron numerados y pesados cada uno de los filtros, registrando su peso inicial. Finalmente, se sellaron las cajas Petri con Parafilm.

- Filtros de cuarzo

Para el tratamiento de los filtros de cuarzo, fueron colocados dentro de capsulas de porcelana un aproximado de 6 filtros por capsula. Posteriormente se llevaron a una mufla para realizar el quemado de los filtros a 500°C durante 6 horas aproximadamente. Una vez fría la mufla se extrajeron los filtros para colocarlos en cajas Petri que fueron numeradas para posteriormente pesar cada filtro y registrar su peso inicial. Finalmente, se sellaron las cajas Petri con Parafilm.

RESULTADOS

Análisis gravimétrico de los filtros

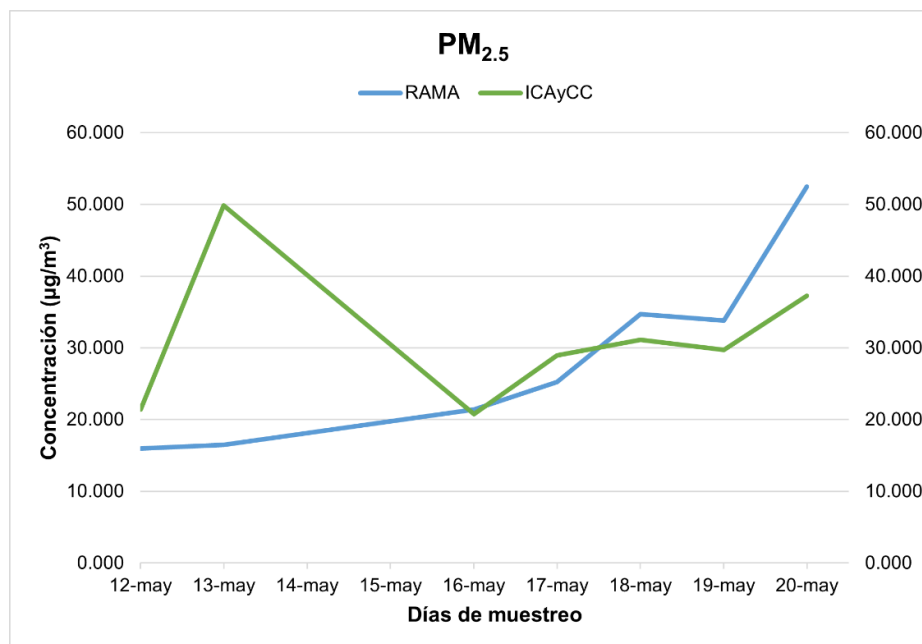
Se llevó a cabo la determinación de la concentración de $PM_{2.5}$ [C] a partir de las muestras obtenidas en los filtros de teflón durante el periodo de muestreo. Para esto se consideró el peso de los filtros (antes y después de cada muestro), el flujo de alimentación de aire y el tiempo de funcionamiento del equipo (Ecuación 1). Los resultados obtenidos fueron registrados en la Tabla 1.

$$[C] = \frac{\text{Peso final del filtro} - \text{Peso inicial del filtro}}{\text{Flujo MiniVol} \times \text{Tiempo de funcionamiento}} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Tabla 1. Concentración de $PM_{2.5}$

Fecha	Peso inicial (mg)	Peso final (mg)	[C] ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)
12/05/2022	182.58	182.73	21.416
13/05/2022	183.01	183.37	49.894
16/05/2022	187.04	187.19	20.789
17/05/2022	185.95	186.16	28.983
18/05/2022	184.53	184.76	31.096
19/05/2022	184.44	184.65	29.727
20/05/2022	180.47	180.74	37.264

Posteriormente, se realizó la comparación de los datos registrados en la Tabla 1 y los datos registrados por la RAMA para la determinación de $PM_{2.5}$, los resultados se muestran en la Gráfica 1.



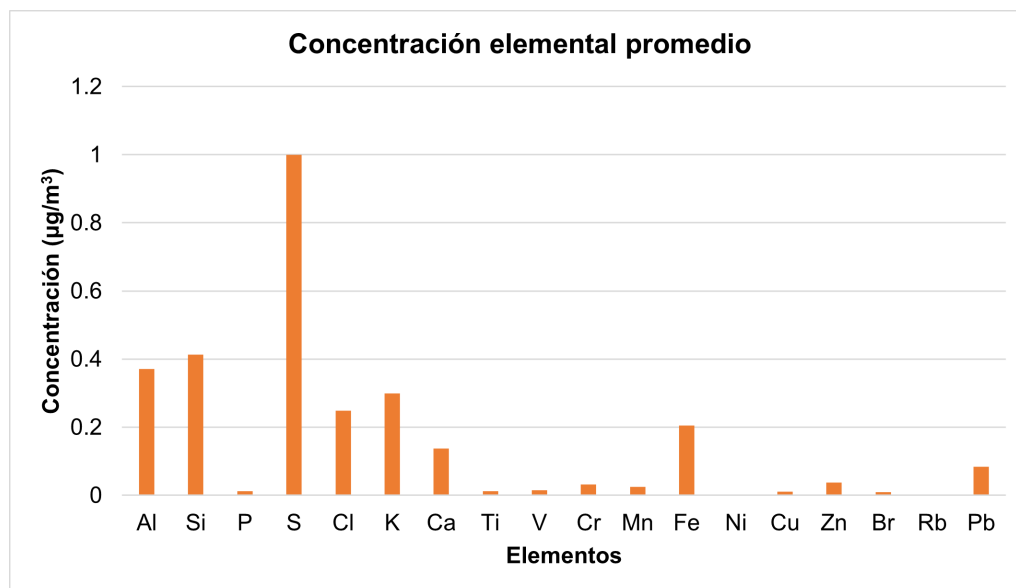
Gráfica 1. Serie de tiempo de las partículas $PM_{2.5}$ durante la campaña de muestreo.

Análisis de fluorescencia de rayos X

Los análisis XRF se realizaron con un espectrómetro de fluorescencia de rayos X (XRF) desarrollado para aplicaciones ambientales en el Instituto de Física de la UNAM (IFUNAM) para determinar la concentración de elementos presentes en las muestras obtenidas (Hernandez-López *et al.*, 2016).

La muestra se irradia de manera puntal, es decir, se excitan todos los elementos presentes en la muestra al mismo tiempo en un mismo punto. Los fotones emitidos son captados por el detector que recolecta la radiación incidente de la muestra y separa las energías características de cada elemento. El detector en un espectrómetro de XRF produce un pulso eléctrico cuando capta la señal de un fotón de rayos X. La altura del pulso emitido es proporcional a la energía del fotón. Los cuales son amplificados y se cuentan en un analizador multicanal para formar un espectro. El detector de estado sólido es uno de los más usados para XRF. Este tipo de detectores pueden fácilmente determinar elementos desde sodio hasta uranio (Reynoso-Cruces, 2022).

Una vez obtenidos los resultados de XRF, se llevó a cabo el cálculo de la concentración elemental contenida en las muestras obtenidas para posteriormente graficar la concentración elemental promedio (Gráfica 2).



Gráfica 2. Concentración elemental promedio determinada por la técnica de XRF.

BIBLIOGRAFÍA

Alvarez-Ospina, H. (2009). *CALIDAD DEL AIRE EN UNA REGION CAFETALERA, PACHO VIEJO, VERACRUZ*. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

Córdoba, F., Ramírez-Romero, C., Cabrera, D., Raga, G. B., Miranda, J., Alvarez-Ospina, H., Rosas, D., Figueroa, B., Sung Kim, J., Yakobi-Hancock, J., Amador, T., Garcíá, M., Bertram,

- A. K., Baumgardner, D., & Ladino, L. A. (2021). Measurement report: Ice nucleating abilities of biomass burning, African dust, and sea spray aerosol particles over the Yucatán Peninsula. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 21(6). <https://doi.org/10.5194/acp-21-4453-2021>
- Hernandez-López, A. E., Miranda, J., & Pineda, J. C. (2016). X-Ray Fluorescence Analysis of Fine Atmospheric Aerosols from a Site in Mexico City. *Journal of Nuclear Physics, Material Sciences, Radiation and Applications*, 4(1), 25–30. <https://doi.org/10.15415/jnp.2016.41003>
- Hidalgo-Reyes, C. (2016). *Caracterización de partículas atmosféricas en Ciudad Universitaria, utilizando técnicas analíticas diferentes (cromatografía de intercambio iónico y espectrometría de masas)*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Manzanares, L. Echániz, G., López, M., Pérez, I., Garibay, V. 2011. Guíametodológica para la estimación de emisiones de PM2.5. INE, México. pp 103.
- Molina, L. T., Madronich, S., Gaffney, J. S., Apel, E., De Foy, B., Fast, J., Ferrare, R., Herndon, S., Jimenez, J. L., Lamb, B., Osornio-Vargas, A. R., Russell, P., Schauer, J. J., Stevens, P. S., Volkamer, R., & Zavala, M. (2010). An overview of the MILAGRO 2006 Campaign: Mexico City emissions and their transport and transformation. In *Atmospheric Chemistry and Physics* (Vol. 10, Issue 18). <https://doi.org/10.5194/acp-10-8697-2010>
- Morales, R. 2006. Contaminación atmosférica urbana: episodios críticos de contaminación ambiental en la ciudad de Santiago. Santiago de Chile: Universitaria. pp 111–123.
- Reynoso-Cruces, S. (2022). *Estudio del aerosol atmosférico presente en ambientes intramuros de la Zona Metropolitana del Valle de México*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Pope III C.A. y Dockery D.W. 2006. Health effects of fine particulate air pollution: lines that connect. *Journal of the Air and Waste Management Association*, 56, 709–742.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2009. Cambio climático. Ciencia, evidencia y acciones. México.
- Vega, N. (2022). *Efectos del SARS-COV-2 en la calidad del aire sobre la Zona Metropolitana del Valle de México*. Universidad Nacional Autónoma de México.

ANÁLISIS DE LAS FRECUENCIAS DE RS6494223 Y RS1057868 EN
CHRNA7 Y POR EN POBLACIÓN MESTIZA MEXICANA

Karen Arlette Ramírez Ceja¹, Alberto Ortega Vázquez², Blanca Estela Pérez Aldana³, Ingrid Fricke-Galindo⁴, Tirso Zúñiga Santamaría⁵, Petra Yescas Gómez⁶, Marisol López López⁷.

^{1,2,7}Departamento de Sistemas Biológicos, UAM-X, ³Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, UAM, ⁴Laboratorio de HLA, INER, ^{5,6}Departamento de Genética, INNNMVS.

*Autor de correspondencia: Dra. Marisol López López.

Correo: (mlopez@correo.xoc.uam.mx)

Palabras clave: Frecuencias, equilibrio, poblaciones.

INTRODUCCIÓN: La enfermedad de Alzheimer (EA) es un proceso neurodegenerativo crónico que representa la causa más común de demencia (60%). La terapia farmacológica incluye inhibidores de la acetilcolinesterasa y antagonistas del receptor N-metil-D-aspartato; sin embargo, la respuesta a estos fármacos es aproximadamente del 30%. Existen diferencias interétnicas en variantes genéticas de enzimas (POR rs1057868), transportadores y receptores (CHRNA7 rs6494223) de fármacos que contribuyen a la ineficacia y de las que se desconoce sus frecuencias en la población mestiza mexicana (MM).

OBJETIVO (S): Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes rs6494223 y rs1057868 en 292 voluntarios sanos MM y compararlas con las reportadas en otras poblaciones.

MATERIALES Y MÉTODOS: Siguiendo todas las consideraciones éticas se incluyeron 292 voluntarios sanos. Se realizó extracción de DNA genómico y la genotipificación de las variantes se realizó por discriminación alélica mediante sondas alelo-específicas. Se realizó la determinación de las frecuencias genotípicas y alélicas con el fin de observar si las muestras se encuentran en equilibrio de acuerdo con la Ley de Hardy-Weinberg (LHW) utilizando la prueba de χ^2 . Las frecuencias obtenidas se compararon con las de otras poblaciones mediante prueba exacta de Fisher.

RESULTADOS: Las frecuencias genotípicas y alélicas de ambas variantes están en equilibrio de acuerdo con la LHW y se muestran en la Tabla 1. Las frecuencias encontradas son similares a las reportadas en la base de datos pública (Proyecto HapMap) para individuos con ascendencia mexicana que viven en Los Ángeles, California (MXL) ($p=1.000$). Las frecuencias de la variante rs1057868 son diferentes a las reportadas en población africana ($p=0.0001$), asiáticos del este ($p=0.0001$) y sur de Asia ($p=0.0002$). Para

la variante rs6494223 se encontraron diferencias con la población americana ($p=0.0091$), asiáticos del este ($p=0.0001$), europea ($p=0.0019$) y sur de Asia ($p=0.0096$).

Tabla 1. Frecuencias genotípicas y alélicas de rs6494223 y rs1057868 en MM (n=292).

Gen	Variante	Genotipo	n	Frecuencia genotípica	IC 95%	Frecuencia alélica
CHRNA7	rs6494223	CC	88	0.301	0.251-0.356	0.529
		CT	133	0.455	0.399-0.512	-----
		TT	71	0.243	0.197-0.295	0.471
		Total	292	1.000		1.000
POR	rs1057868	CC	160	0.548	0.490-0.604	0.741
		CT	113	0.387	0.332-0.444	-----
		TT	19	0.065	0.041-0.099	0.259
		Total	292	1.000		1.000

La población estudiada se encuentra en equilibrio de acuerdo a la LHW ($p>0.05$).

CONCLUSIONES: Las frecuencias alélicas de las variantes rs6494223 y rs1057868 son similares a las reportadas para MXL y mostraron diferencias interétnicas con otras poblaciones. Este estudio puede tener implicaciones importantes en la respuesta clínica en el tratamiento farmacológico para la EA.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Flint Beal M, Richardson E, Martin J. Enfermedad de Alzheimer y demencias afines. En: Harrison TR. Principios de medicina interna. 14ª edición. México: Edit. Interamericana Mc Graw-Hill, 1998 vol. II: 2613-2616.
2. Risacher S, Saykin A. Neuroimaging biomarkers of neurodegenerative diseases and dementia. Semin Neurol; 2013. 33(4):386-416.
3. Burns A, O'Brien J. Clinical practice with antidementia drugs: a consensus statement from British Association for Psychopharmacology. J Psychopharmacol; 2006. 20:732-55.
4. Alberca R, López S. Enfermedad de Alzheimer y otras demencias. 4ta. Edición. Madrid España: Edit. Médica Panamericana; 2011. p.143-287.

RELACIÓN DE GENES CIRCADIANOS *PER3*, *OX2R* Y *APOE* CON SÍNTOMAS NEUROPSIQUIÁTRICOS EN PACIENTES CON DEMENCIA TIPO ALZHEIMER

Lozano Tovar Gladys Susana¹, Morán Millán Jessica Carolina², David José Dávila Ortiz de Montellano², Ortega Vázquez Alberto³, Yaneth Rodríguez Agudelo¹, Monroy Jaramillo Nancy^{2*}.

Adscripciones:

1. Laboratorio de Neuropsicología, INNNMVS
2. Departamento de Genética, INNNMVS
3. Departamento de Sistemas Biológicos, UAM-Xochimilco.

*Autor de correspondencia: Monroy Jaramillo Nancy

Correo: nancy97@unam.mx

Palabras clave: Alzheimer, genes CLOCK, síntomas neuropsiquiátricos

INTRODUCCIÓN: Los genes CLOCK han sido ampliamente estudiados en patologías psiquiátricas, especialmente la variante *PER3* que se ha relacionado con trastornos del estado del ánimo y las orexinas (*OX2R*) con trastornos del sueño y alimentación. Sin embargo, su estudio en patologías neurodegenerativas y asociadas con *APOE*, es muy reciente con hallazgos novedosos en cuanto a su relación con síntomas neuropsiquiátricos en pacientes con demencia tipo Alzheimer (DA).

OBJETIVO (S): Determinar la asociación entre variantes genéticas de *OX2R*, *APOE* y *PER3* y síntomas neuropsiquiátricos en pacientes con DA y controles.

MATERIALES Y MÉTODOS: Previo firma de consentimiento informado y siguiendo las consideraciones éticas (protocolos 38/19 y 11/20), se evaluaron 32 pacientes con DA y 31 controles sanos. Se aplicó entrevista clínica, inventario neuropsiquiátrico de Cummings, prueba cognitiva (MoCA) y escala de trastorno de sueño para el adulto mayor a los participantes. Se extrajo DNA de muestras de sangre periférica. La genotipificación de las variantes *PER3_rs228697*, *rs57875989*; y *OX2R_rs9370399* se realizó con PCR tiempo real. El VNTR de *PER3_rs57875989* se determinó por electroforesis capilar. Las frecuencias alélicas-genotípicas de las variantes se determinaron en 100 muestras controles.

RESULTADOS: No hubo diferencias significativas entre las variantes *PER3* y *OX2R* entre pacientes y controles. En *APOE* hubo un mayor porcentaje en pacientes que controles. Se encontró mayor porcentaje de los heterocigotos de *PER3_rs228697* y *rs57875989*, *OX2R_rs9370399* en los pacientes. En relación a los síntomas neuropsiquiátricos, encontramos asociación entre *PER3_rs57875989* y alteración motriz ($p=0.05$) y tendencia entre *PER3_rs228697* y agitación ($p=0.07$). Se encontró una asociación entre *PER3_rs228697* con alteraciones del sueño e insomnio ($p=0.04$) y con el síndrome de apnea-hipopnea obstructiva del sueño ($p=0.02$). *APOE* presentó asociación con alteración en la alimentación ($p=0.03$).

CONCLUSIONES: Las variantes de PER3 podrían ser marcadores potenciales de síntomas neuropsiquiátricos específicos en DA. El gen APOE continúa presentándose como marcador en Alzheimer no sólo en el área cognitiva, también en síntomas neuropsiquiátricos. Nuestros resultados preliminares deberán confirmarse en una muestra ampliada.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Garbaza, Corrado, and Francesco Benedetti. 2018. "Genetic Factors Affecting Seasonality, Mood, and the Circadian Clock." *Frontiers in Endocrinology* 9(AUG):1–9. Mueller-Schiffmann, A.; Sticht, H.; Korth, C. *BioDrugs*. **2012**. 26, 21–31.
2. Liguori, Claudio, Matteo Spanetta, Francesca Izzi, Flaminia Franchini, Marzia Nuccetelli, Giulia Maria Sancesario, Simona Di Santo, Sergio Bernardini, Nicola Biagio Mercuri, and Fabio Placidi. 2020. "Sleep-Wake Cycle in Alzheimer's Disease Is Associated with Tau Pathology and Orexin Dysregulation." *Journal of Alzheimer's Disease* 74(2):501–8.
3. Liberman, Amanda R., Soo Bin Kwon, Ha T. Vu, Allan Filipowicz, Ahmet Ay, and Krista K. Ingram. 2017. "Circadian Clock Model Supports Molecular Link between PER3 and Human Anxiety." *Scientific Reports* 7(1):1–10.

Eje Temático

Biotransformaciones (BTR)

Carteles

BTR-1 INMOVILIZACIÓN DE REDUCTASAS PRESENTES EN LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE *PHASEOLUS VULGARIS* (FRIJOL)

Olga Jazmín Morales Alcantar, R. Marlen Martínez Casares, Aida Solís Oba, Liliana Hernández Vázquez, Julia Cassani Hernández, Héctor Luna Contla*
Departamento de Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud.
Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, Calz. del Hueso 1100, Col. Villa Quietud,
Coyoacán, C.P. 04960, Ciudad de México.
Correo: *rmartinezc@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: *biocatálisis inmovilización, reductasas, alcohol bencílico*

INTRODUCCION

Actualmente se cuenta con diversos sistemas para llevar a cabo la reducción de carbonilos, que presentan altos rendimientos, sin embargo, la mayoría de estas reacciones utilizan metales pesados, agentes reductores de hidruro y disolventes orgánicos como medio de reacción, lo que implica daño al medio ambiente.¹ Una alternativa atractiva es el uso de biocatalizadores de origen vegetal.

Los biocatalizadores que catalizan la biotransformación del grupo carbonilo de aldehído o cetonas a los alcoholes correspondientes y viceversa, se pueden encontrar clasificados como deshidrogenasas dependientes de nicotinamida (E.C. 1.1.1), específicamente como aldocetoreductasas, son enzimas dependientes del cofactor de nicotinamida [nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) o nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH)] que juega el papel de aceptor o donador de electrones.²

Se ha demostrado que los extractos de plantas son catalizadores útiles para la reducción específica de aldehídos y cetonas a los correspondientes alcoholes, por ejemplo, el uso de frijol ha demostrado tener actividad reductasa, sin embargo, no hay reportes de metodologías de inmovilización para extractos acuosos de *Phaseolus vulgaris* (frijol), ni de su actividad reductasa.

Las metodologías de reducción que utilizan enzimas, frecuentemente, son realizadas en medios acuosos, en un rango de temperatura entre 4 y 60 °C, a valores de pH cercanos a la neutralidad, reduciendo el uso de disolventes,³ se evita la formación de residuos tóxicos generados al utilizar metales pesados y agentes reductores de hidruro, que pueden contaminar el medio ambiente, además, los biocatalizadores se degradan sin generar productos tóxicos y pueden ser reutilizados cuando se encuentran inmovilizados.

La inmovilización consiste en mantener la enzima (biocatalizador) unida o atrapada en un soporte físico, conservando su actividad catalítica y permitiendo el flujo de sustratos y productos.⁴

El uso de enzimas inmovilizadas actualmente es considerado de gran interés debido a las ventajas que presenta, por ejemplo, permiten un uso continuo, reutilización, control de las concentraciones de proteína empleada, mejora la estabilidad, especialmente frente a disolventes orgánicos y temperaturas más altas, por lo anterior, se convirtió en un proceso de rutina para la fabricación de muchos productos, en la industria farmacéutica, química y alimentaria.^{5,6}

OBJETIVO

Reducir benzaldehído a alcohol bencílico, usando los extractos acuosos e inmovilizados de frijol ayocote y pinto como fuentes de reductasa

MATERIALES Y METODOS

El benzaldehído y el alcohol bencílico fueron adquiridos de Sigma-Aldrich. Todos los disolventes fueron adquiridos de J.T. Baker o Techrom. Las semillas de frijol ayocote y pinto fueron adquiridas de un mercado local de la ciudad de México.

- **Obtención de extractos enzimáticos con actividad reductasa**

Los frijoles ayocote (f. ayocote), flor de mayo (f. mayo), bayo (f. bayo) y pinto (f. pinto), se sumergieron con una solución de hipoclorito de sodio al 5% durante 10 min, se lavaron con agua destilada y se dejaron secar. Se pesaron 1 g de semillas y se pulverizaron en un molino para café Hamilton Beach 80374, la harina obtenida se tamizó y se mezcló con solución amortiguadora de Fosfatos (1:4 p/v, 0.15 M, pH 8.1) se agitó mecánicamente por 1 h, se centrifugó a 4000 rpm, 5°C, 10 min. El sobrenadante (extracto acuoso), se decantó y se midió el volumen, este se utilizó como fuente de enzima

- **Obtención de liofilizados de los extractos acuosos**

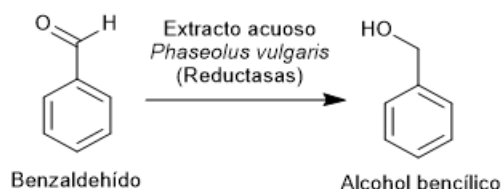
El extracto acuoso (15 mL) se congeló a -75°C (Revco), se liofilizó a -51 °C, 0.133 mBar, durante 17 h utilizando una liofilizadora LABCONCO FreeZone 4.5. Posteriormente se recuperó el polvo liofilizado, se pesó, tamizó y se calculó la pérdida de agua. Los materiales liofilizados se almacenaron en refrigeración a 4°C. Para su utilización fueron regenerados con la cantidad de agua que perdieron, se dejaron agitar durante una hora, se usó la solución como fuente de reductasas.

- **Inmovilización de los extractos acuosos con actividad reductasa**

Al extracto acuoso o el polvo liofilizado regenerado con agua (0.1g o su equivalente en volumen) de las semillas de frijol se le adicionó celita en una relación 1:1 y 1:4, se agitó a 5 °C por 24h, se congeló a -75°C (Revco), se liofilizó a -51 °C, 0.133 mBar durante 17h. El polvo obtenido se inmovilizó.

- **Evaluación de la actividad reductasa**

La reducción de benzaldehído a alcohol bencílico (**Esquema 1**) se utilizó como reacción de referencia, para poder determinar y comparar la actividad reductasa con base en el % de conversión de los extractos acuosos de las diferentes variedades de frijol.



Esquema 1. Reacción de reducción de benzaldehído a alcohol bencílico.

Biorreducción: A 1 mL de extracto acuoso o su equivalente en peso para el liofilizado o inmovilizado, se le agregó 0.015 mmol (1.5 μ L) de benzaldehído disuelto en 48.5 μ L de isopropanol, se agitó mecánicamente a 25°C en una incubadora Enviro-Genie, después de 24 h se extrajo con éter etílico (2 x 0.5 mL), se centrifugó a 13000 rpm, 5°C durante 5 min, se secó con sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄), el % de conversión se determinó por Cromatografía de gases (CG). Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Determinación del % Conversión (% Conv): La reducción se determinó mediante CG, se usó un cromatógrafo HP 6890, equipado con una columna HP-5 (30 m x 0.25 mm, 0.25 μ m), se utilizó como gas acarreador N₂, temperatura del inyector y detector a 250°C, la temperatura del horno a 130°C, la velocidad de flujo 0.8 mL/min.

- **Análisis Estadístico de los datos**

Se realizó un análisis estadístico para evaluar la actividad reductasa con base en el % Conv de las diferentes extractos acuosos, liofilizados o inmovilizados utilizando el software JMP versión 13 (SAS Institute Inc., North Caroline, USA), se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) seguido de una prueba pos hoc para comparar las medias HSD Tukey–Kramer, se consideró diferencia estadísticamente significativa con $p < 0.05$. Todos los datos se expresan en media \pm desviación estándar (SD).

RESULTADOS Y DISCUSION

En la **tabla 2** se muestran los % de conversión de benzaldehído a alcohol bencílico usando como fuentes de biocatalizador los frijoles ayocote y pinto. El mejor

Utilizando el extracto acuoso el mejor % de conv se obtuvo el frijol pinto con 78%, y con el frijol ayocote la conversión fue del 62.4%, es decir, la actividad reductasa es mayor en el extracto acuoso del frijol pinto.

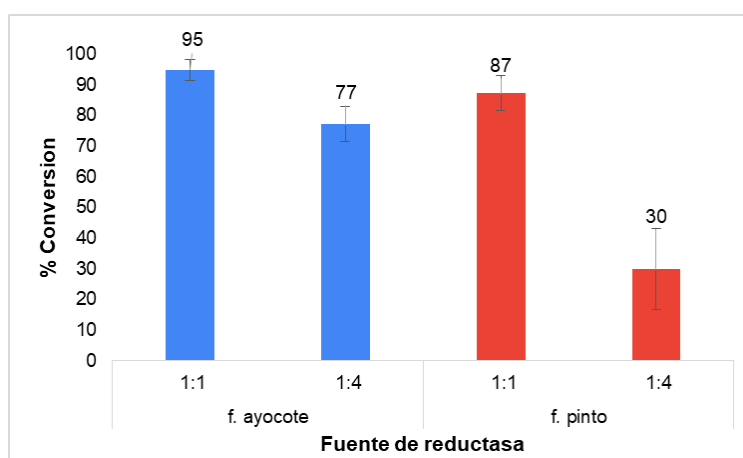
Debido a que los extractos acuosos no son estables, se decidió eliminar el agua por liofilización, para tener un polvo que se pudiera utilizar sin tener que estar preparando el extracto cada vez que se tenga que llevar a cabo la reducción de un compuesto carbonílico. Desafortunadamente se observó una reducción sustancial de la actividad reductasa, en el caso del frijol ayocote la disminución fue del 18% mientras que con pinto fue del 30%

Tabla 1. Porcentajes de conversión de los polvos liofilizados y extracto acuoso.

Frijol	% Conv Extracto Acuoso	% Conv Liofilizado
f. ayocote	62.4 ± 0.78	44.9 ± 3.96
f. pinto	78.0 ± 1.77	47.9 ± 5.15

Manteniendo el objetivo de tener una enzima que sea estable y se pueda almacenar, lo que no se logró con la liofilización del extracto acuoso de los frijoles, se procedió a la inmovilización de la enzima cruda presente en los extractos acuosos por adsorción sobre celita, utilizando diferentes proporciones de celita en cada semilla, las cuales fueron 1:1 y 1:4.

En la **gráfica 1** se muestran los % de conversión de benzaldehído a alcohol bencílico utilizando las semillas de frijol ayocote y pinto inmovilizadas a diferentes relaciones de Celita (1:1 y 1:4), los mejores % de conversión se obtuvieron con la relación 1:1, para el frijol ayocote y pinto los % de conv fueron de 95% y 87% respectivamente. Por otro lado, en la relación 1:4 se obtuvieron % de conv >77%.



Gráfica 1. Porcentajes de conversión de los extractos acuosos de frijoles ayocote (f. ayocote) y pinto (f. pinto), inmovilizados sobre Celita en relación 1:1 y 1:4.

Como se observa en la **tabla 1** y la **gráfica 1** para las variedades de frijol ayocote y pinto, la inmovilización no solo mantuvo la actividad biocatalítica de las reductasas, sino que dicha actividad aumentó de manera apreciable, en el caso de la enzima inmovilizada de f. ayocote relación 1:1 el incremento en la reducción fue del 32.5% y con el inmovilizado de f. pinto en la misma relación, el aumento fue del 9%. Esto se puede deber a que el proceso de inmovilización por adsorción es menos agresivo para la enzima que los procesos químicos, se logró concentrar la enzima, además de aumentar su estabilidad.

CONCLUSION

Se comparó la actividad reductasa de los extractos acuosos, polvo liofilizado e inmovilizados de los frijoles ayocote y pinto. La reducción de benzaldehído con el extracto de frijol pinto fue mayor que con ayocote, pero cuando se inmovilizó la reductasa cruda ese orden se invirtió, la enzima de f. ayocote inmovilizada fue más activa que la f. pinto.

REFERENCIAS

1. Solís, A.; Martínez, R. M.; Cervantes, F.; Pérez, H. I.; Manjarrez, N.; Solís, *Biocatal. Biotransformation* **2019**, 37 (2), 152–157.
2. Sengupta, D.; Naik, D.; Reddy, A. R. Update. *J. Plant Physiol.* **2015**, 179, 40–55.
3. Abdelraheem, E. M. M.; Busch, H.; Hanefeld, U.; Tonin, F. *React. Chem. Eng.* **2019**, 4 (11), 1878–1894.
4. Fajardo-Ochoa, R.; Osuna-Castro, J. A.; VillaVelázquez-Mendoza, **2011**, No. 6, 16.
5. Fernández V.; Gómez M. *An. Quím.* **2017**, 113 (1), 27-35.
6. Basso, A.; Serban, S. *Mol. Catal.* **2019**, 479.

BTR-2 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD REDUCTASA DE *PHASEOLUS VULGARIS* (FRIJOL) EN DIFERENTES MEDIOS DE REACCIÓN

*Olga Jazmín Morales Alcantar*¹, *Rubria Marlen Martínez Casares*^{1*}, *Aida Solís Oba*¹, *Liliana Hernández Vázquez*¹, *Julia Cassani Hernández*¹, *Hector Luna Contla*¹

¹ Departamento de Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, Calzada del Hueso 1100, Coapa, Villa Quietud, Coyoacán, 04960, Ciudad de México.

Correo: *rmartinezc@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: *biocatalizadores, phaseolus vulgaris, reductasas, alcohol bencílico*

INTRODUCCIÓN

En la última década, la biocatálisis se ha integrado en la corriente principal de la síntesis orgánica, especialmente en la industria farmacéutica, esto puede atribuirse en gran medida a sus numerosas ventajas medioambientales y económicas. Los biocatalizadores son enzimas que proceden de recursos renovables, son baratos, fáciles de utilizar¹ y se degradan sin generar productos tóxicos para el ambiente. Los biocatalizadores se han obtenido de diferentes fuentes: microorganismos, animales y plantas, se han utilizado como enzimas purificadas, inmovilizadas y extractos crudos.

Las reacciones biocatalizadas presentan ventajas sobre la síntesis química tradicional como son: la regio-, quimio- y estereoselectividad,² disminuyen la formación de subproductos y residuos,³ las reacciones enzimáticas se llevan a cabo en condiciones suaves (temperatura y presión ambientales), en estas reacciones es muy importante considerar el pH en el cual las enzimas mantienen su actividad catalítica, las enzimas funcionan de forma óptima en el agua, lo que generalmente se considera una ventaja, pero puede ser un grave inconveniente si el sustrato orgánico es poco soluble en agua, de ahí el gran interés por la enzimología no acuosa, se ha demostrado que muchas enzimas son más estables en disolventes orgánicos que en el agua.⁴

Entre los biocatalizadores encontramos a las reductasas, que catalizan la reacción de aldehídos o cetonas a alcohol bencílico, además evitan la formación de residuos tóxicos que pueden contaminar el medio ambiente, como es el uso de metales pesados y agentes reductores de hidruro.³

La reducción de aldehídos y cetonas constituye una herramienta importante en química orgánica para la preparación de alcoholes, que se puede utilizar en la síntesis de cosméticos, productos farmacéuticos y agroquímicos. Actualmente existe una amplia gama de sistemas de reducción disponibles sin embargo, la mayoría de estas reacciones utilizan metales pesados, disolventes orgánicos como medio de reacción, lo que implica daño al medio ambiente.³ Por lo anterior, en esta investigación se evaluó la actividad reductasa de los extractos acuosos de *Phaseolus vulgaris* (Frijol) al emplear 3 soluciones amortiguadoras diferentes.

OBJETIVO

Evaluar la actividad reductasa de los extractos acuosos de las variedades de *Phaseolus vulgaris*: bayo, ayocote, flor de mayo y pinto, así como el efecto del tipo de solución amortiguadora sobre la reducción de benzaldehído a alcohol bencílico.

MATERIALES Y MÉTODOS

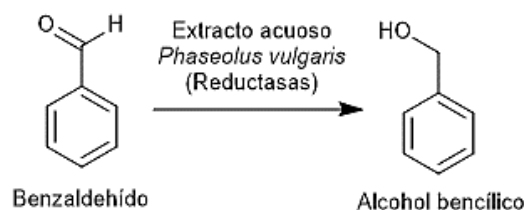
Benzaldehído y alcohol bencílico fueron adquiridos de Sigma-Aldrich. Todos los disolventes fueron adquiridos de J.T. Baker o Techrom. Las semillas de frijoles, pinto (f. pinto), flor de mayo (f. mayo), ayocote (f. ayocote) y bayo (f. bayo) fueron adquiridos de un mercado local de la ciudad de México.

- **Obtención de los extractos enzimáticos con actividad reductasa**

Los frijoles, pinto, flor de mayo, ayocote y bayo se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio al 5% durante 10 min, se lavaron con agua destilada y se dejaron secar. Se pesaron 1 g de semillas y se pulverizaron en un molino para café Hamilton Beach 80374, la harina obtenida se tamizó y se mezcló con solución amortiguadora (1:4 p/v) se agitó mecánicamente por 1 h, se centrifugó a 4000 rpm, 5°C, 10 min. El sobrenadante (extracto acuoso), se decantó y se midió el volumen, este se utilizó como fuente de enzima reductasa.

- **Evaluación de la actividad reductasa**

La reducción de benzaldehído a alcohol bencílico (**Esquema 1**) se utilizó como reacción de referencia, para poder determinar y comparar la actividad reductasa de los extractos acuosos de las diferentes variedades de frijol.



Esquema 1. Reacción de reducción de benzaldehído a alcohol bencílico.

Biorreducción: A 1 mL de extracto acuoso se le agregó 0.015 mmol (1.5 μL) de benzaldehído disuelto en 48.5 μL de isopropanol, se agitó mecánicamente a 25°C en una incubadora Enviro-Genie, después de 24 h se extrajo con éter etílico (2 x 0.5 mL), se centrifugó a 13000 rpm, 5°C durante 5 min, se secó con sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4), el % de conversión se determinó por Cromatografía de gases (CG). Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Influencia del tipo de solución amortiguadora: Se comparó la influencia de diferentes tipos de solución amortiguadora en la actividad reductasa. Se prepararon soluciones amortiguadoras de: Fosfatos (FO), Tris-HCL (TR), HEPES (HE), todos en concentración 0.15 M, pH 8.1 y se compararon al utilizar agua como medio de reacción.

Determinación del % Conversión (% Conv): La reducción se determinó mediante CG, se usó un cromatógrafo HP 6890, equipado con una columna HP-5 (30 m x 0.25 mm, 0.25 μ m), se utilizó como gas acarreador N₂, temperatura del inyector y detector a 250°C, la temperatura del horno a 130°C, la velocidad de flujo 0.8 mL/min.

- **Análisis Estadístico de los datos**

Se realizó un análisis estadístico para evaluar la influencia de las soluciones amortiguadoras (FO, TR y HE) y las semillas (frijoles pinto, flor de mayo, ayocote y bayo) sobre el efecto del % Conv, si alguna variable mostró diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) se realizó una prueba post hoc HSD Tukey–Kramer. Se utilizó el software JMP versión 13 (SAS Institute Inc., North Caroline, USA). Todos los datos se expresan en media \pm desviación estándar (SD).

RESULTADOS:

- **Evaluación del medio de reacción en la actividad reductasa**

En la **tabla 1** se muestran los % de conversión de benzaldehído a alcohol bencílico, usando como fuente de biocatalizadores los frijoles f. bayo y f. ayocote, en agua y tres soluciones amortiguadoras (FO, HE y TR) a las 24 horas. Al utilizar agua se obtuvieron % de conversión $< 3\%$, la actividad reductasa mejora significativamente al utilizar soluciones amortiguadoras, para el f. bayo la mejor solución amortiguadora fue fosfatos (FO) con 83.1 % de reducción, mientras que para el f. ayocote fue la solución amortiguadora de Tris-HCl (TR) con 72.2 % de conversión.

Tabla 1. Porcentaje de conversión utilizando agua y diferentes soluciones amortiguadoras como medio de reacción a las 24 h.

Frijol	% Conv agua	% Conv TR	% Conv FO	% Conv HE
F. Bayo	2.5 \pm 0.51	68.0 \pm 6.34	83.1 \pm 11.88	74.4 \pm 14.82
F. Ayocote	2.4 \pm 0.75	72.2 \pm 7.93	62.4 \pm 0.60	59.6 \pm 10.39

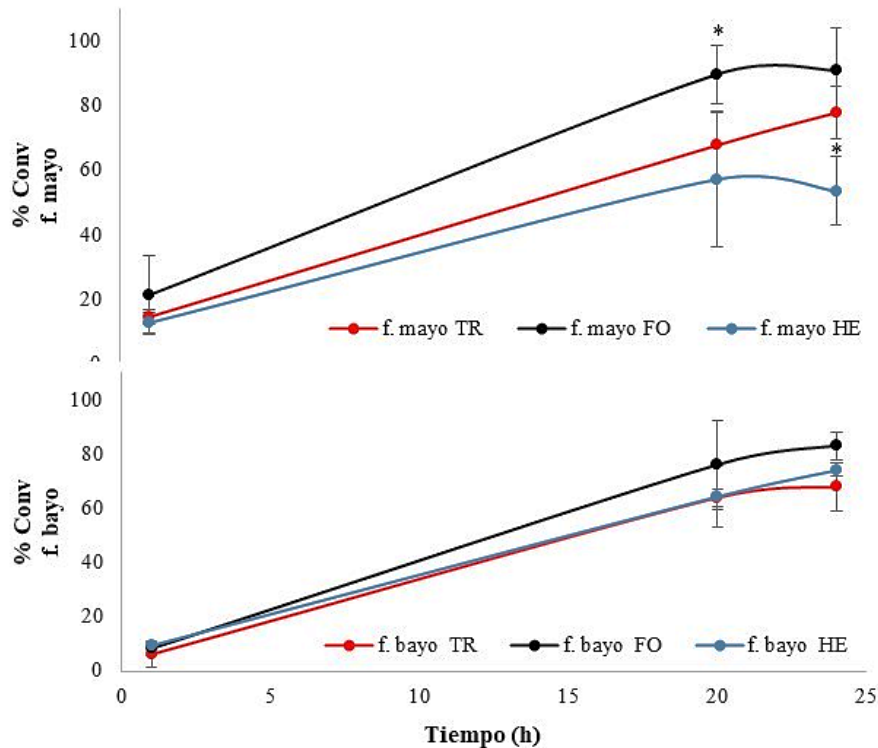
Con los resultados anteriores, se decidió probar diferentes semillas de frijol con las tres soluciones amortiguadoras, para evaluar el efecto de las soluciones amortiguadoras y las variedades de frijol en el % de conversión a alcohol bencílico.

- **Evaluación del tiempo de reacción en la actividad reductasa**

En la **gráfica 1** se presenta la cinética de la reducción de benzaldehído a alcohol bencílico, comparando el frijol f. mayo y bayo, en soluciones amortiguadoras FO, TR y HE. En la primera hora el % de conversión fue menor al 20%.

A las 20 h, para f. mayo y f. bayo con la solución de FO se obtuvieron los mayores % de conversión con 89.7% y 76.0%, respectivamente; mientras que con las soluciones de TR y HE se obtuvieron % de reducción > 65% para ambos frijoles.

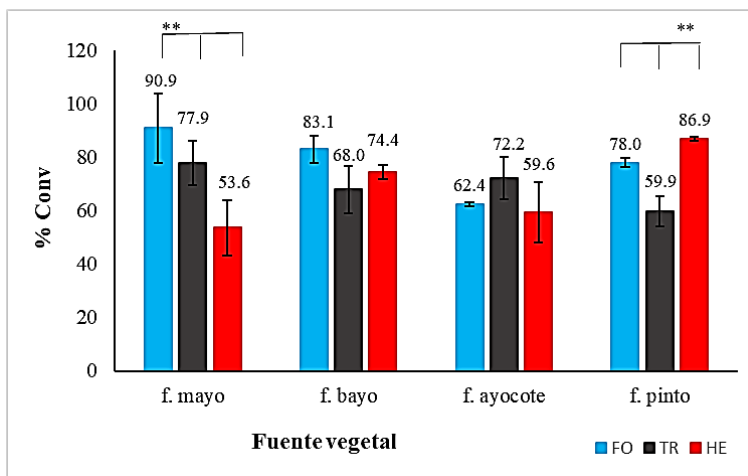
A las 24 h, los mayores resultados se obtuvieron con la solución amortiguadora de FO, 90.9% para f. mayo y 83.1 % para f. bayo.



Gráfica 1. Cinética de la reacción de reducción de benzaldehído a alcohol bencílico con f. mayo y f. bayo utilizando diferentes soluciones amortiguadoras (TR, FO y HP). * $p < 0.05$ diferencia estadísticamente significativa.

- **Evaluación de los medios de reacción con respecto a las diferentes variedades de *Phaseolus vulgaris***

En la **gráfica 2** se muestran los mayores % de conversión de alcohol bencílico. Para f. bayo, f. mayo en la solución amortiguadora de FO se obtuvieron % de reducción de 83.1 y 90.9%, respectivamente. Para f. ayocote el mayor % fue de 72.2% con solución TR y por último, para f. pinto el mayor % de conversión es de 86.9% con solución HE.



Gráfica 2. Reducción de benzaldehído para la obtención de alcohol bencílico, utilizando como biocatalizador los frijoles bayo, flor de mayo, ayocote y pinto con las 3 soluciones amortiguadoras, * $p < 0.05$ y *** $p < 0.001$ diferencia estadísticamente significativa.

CONCLUSIONES:

Las soluciones amortiguadoras que se utilicen como medio de reacción, tienen un efecto muy importante sobre el % de conversión, además para cada variedad de frijol bayo, mayo, ayocote y pinto, la solución amortiguadora afecto diferente la actividad reductasa. La solución amortiguadora de fosfatos da las mayores % de reducción para f. mayo y bayo, para f. ayocote el mayor % de conversión se obtuvo con la solución amortiguadora de TR, mientras que para f. pinto el mayor % de conversión se obtuvo con la solución amortiguadora de HE.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Solís, A.; Martínez, R. M.; Cervantes, F.; Pérez, H. I.; Manjarrez, N.; Solís, M. *Biocatal. Biotransformation* **2019**, 37 (2), 152–157.
2. Luna, H. *Rev. Soc. Quim. Mex* **2004**, 48, 211–219.
3. Abdelraheem, E. M. M.; Busch, H.; Hanefeld, U.; Tonin, F. *React. Chem. Eng.* **2019**, 4 - 11.
4. Sheldon, R. A. *Chem. Weinh. Bergstr. Ger.* **2016**, 22 -37.

BTR-3 OBTENCIÓN DEL NEOLIGNANO: LICARINA A

María Guadalupe Lara Ruiz ^{*1}, Héctor Luna Contla¹, José de Jesús Lira Ricárdez¹, Rubria, Marlen Martínez Casares¹, Aida Solís Oba¹, Julia Cassani Hernández¹, Liliana Hernandez Vázquez^{*1}.

Laboratorio de Biotatálisis Aplicada, Departamento de Sistemas Biológicos, UAM Xochimilco, Calzada del Hueso 1100 Ciudad de México.

Correo: ruizlararuiz@gmail.com, lhernandez@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: peroxidasa de rábano, agua de coco, licarina A.

INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional a menudo emplea el uso de plantas debido a que producen un gran número de compuestos bioactivos los cuales pueden emplearse como una fuente alternativa para el tratamiento de diversas enfermedades. Los fenilpropanoides son metabolitos secundarios de plantas que contienen estructuras C₆C₃, la dimerización de estos metabolitos conduce a la formación de lignanos y neolignanos. La licarina A o dehidrodiisoeugenol es el neolignano que más se ha estudiado hasta el momento se encuentra en diversas plantas tales como: *Aristolochia taliscana* (Aristolochiaceae), *Machilus thunbergii* (Lauraceae) y *Myristica fragrans* (Myristicaceae). Este compuesto ha probado tener importantes actividades biológicas tales como: antibacteriano, antiinflamatorias, tripanocidas, citotóxico y neuroprotectoras por citar algunos. Sin embargo, la licarina A se presenta de manera limitada en sus fuentes naturales por lo que es necesario el desarrollo de un experimental de síntesis. (1)

OBJETIVO GENERAL

Obtener licarina A (dehidrodiisoeugenol) como mezcla racémica y sus enantiómeros puros.

Objetivos específicos

- Sintetizar licarina A como mezcla racémica usando peroxidasa de rábano.
- Sintetizar el (-) licarina A usando agua de Coco (*Cocos nucifera*).

MATERIALES Y MÉTODOS:

SINTESIS USANDO PEROXIDASA DE RABANO

A una solución de isoeugenol en metanol, se le añadió tampón citrato-fosfato y peroxidasa de rábano. La mezcla se agitó mientras se añadió agua oxigenada gota a gota. La mezcla de reacción se dejó en agitación por 2 h y posteriormente se extrajo con acetato de etilo, la fase orgánica se lavó con una solución saturada de cloruro de amonio y luego se secó con sulfato

de sodio anhidro. La mezcla resultante se evaporó a sequedad al vacío y se purificó por cromatografía en columna usando mezclas de hexano-acetato de etilo como eluyente. (2)

SINTESIS USANDO AGUA DE COCO.

Se colectó agua de cuatro cocos verdes, que luego se filtró a través de algodón, posteriormente se colocó en un matraz Erlenmeyer y se puso en agitación, se añadió una solución de isoeugenol en metanol. Posteriormente se agregó lentamente una solución acuosa de peróxido de hidrógeno al 3% (p/v), y se mantuvo en agitación durante 1 h, se adiciono diclorometano y se agitó magnéticamente durante 10 min más. La mezcla se transfirió a un embudo de extracción se separó y la fase acuosa se extrajo nuevamente con diclorometano. Las fases de diclorometano se combinaron y se secaron con sulfato de sodio anhidro. Después de la eliminación del solvente al vacío, el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice, utilizando como eluyente una mezcla de hexano y acetato de etilo. (3)

Los productos obtenidos a partir de isoeugenol, usando peroxidasa de rábano o agua de coco, se les tomó punto de fusión, se midió rotación óptica y se caracterizaron por RMN.

RESULTADOS:

Síntesis de (\pm)- licarina A usando peroxidasa de rábano.

Se realizaron cinco reacciones para la obtención de (\pm)-licarina A a partir de isoeugenol usando peroxidasa de rábano el mejor rendimiento fue de 93% de (\pm)- licarina A con rotación óptica = 0, punto de fusión= 115-120° C, los datos de RMN ^1H y ^{13}C son consistentes con la literatura (4).

Síntesis de (-)- licarina A usando agua de coco.

Se realizaron seis reacciones para la obtención de (-)-licarina A a partir de isoeugenol (4.345 g) usando agua de coco, la mezcla de reacción (4.7 g) está en proceso de purificación para el aislamiento de (-)-licarina A. (4)

CONCLUSIONES

Se obtuvo (\pm)- licarina A con buen rendimiento (93%) usando peroxidasa de rábano como biocatalizador. Se logró sintetizar (-)-licarina A utilizando agua de coco.

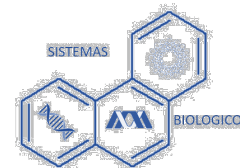
BIBLIOGRAFÍA:

1. Alvarenga DJ, de Figueiredo Peloso E, Marques MJ, de Souza TB, Hawkes JA, Carvalho DT. Natural and Semi-synthetic Licarins: Neolignans with Multi-functional Biological Properties. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 2021 31:3 [Internet]. 2021 Mar 30 [cited 2022 May 10];31(3):257–71. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s43450-021-00144-7>



Casa abierta al tiempo

IX Congreso del Departamento de Sistemas Biológicos



2. Nascimento R., Lopes M.X., Laurence B., Lewis G. Stereoselective Synthesis of 8,9-Licarinediols. *Tetrahedron* 56 (2000) 9181-9193
3. Rodrigues LC, Barbosa-Filho JM, Marques SDG, Borges FVP, André L de AS, Bravo IH de L, et al. Formation of bioactive benzofuran via oxidative coupling, using coconut water (*Cocos nucifera* L.) as biocatalyst. *Organic Communications*. 2017;10(2):72-8.
4. Kruakaew S, Singha S, Sangvichien E, Yahuafai J, Sutthivaiyakit S. Neolignans from *Myristica fragrans* seeds, revision of their absolute configurations, reduction products and biological activities. *Phytochemistry*. 2022 Jul;199:113174.

BTR-4 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE HNL DE
MAMEY INMOVILIZADA SOBRE DIFERENTES TIPOS DE CELITA

Elizabeth Álvarez Montalvo, Aida Solís Oba, R. Marlen Martínez Casares, Liliana Hernández Vázquez,
Julia Cassani Hernández, Héctor Luna Contla*

*Departamento de Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud,
Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Col. Villa Quietud, Coyoacán, 04960, Ciudad de México
Correo: [*asolis@correo.xoc.uam.mx](mailto:asolis@correo.xoc.uam.mx)*

Palabras clave: Hidroxinitrilo liasas, biocatálisis, inmovilización, actividad enzimática, (R)-mandelonitrilo

INTRODUCCIÓN

Las hidroxinitrilo liasas (HNL) catalizan la degradación de las cianohidrininas para formar los correspondientes aldehídos o cetonas y cianuro de hidrógeno (cianogénesis) en estado fisiológico. Se cree que juegan un papel en los sistemas de defensa contra insectos o microorganismos. Por ejemplo, en el árbol de caucho *Hevea brasiliensis*, las cianohidrininas se almacenan como glucósidos y se hidrolizan por las HNL en respuesta a un daño físico, formando cianuro de hidrógeno (HCN) y aldehídos o cetonas.¹

Las enzimas HNL también catalizan la reacción inversa y se utilizan industrialmente para la producción de cianohidrininas quirales, las cuales son bloques de construcción valiosos y versátiles en química orgánica. Las cianohidrininas, se convierten fácilmente para producir α -hidroxialdehídos o α -hidroxicetonas, β -aminoalcoholes o α -fluorocianuros y muchos otros compuestos.² Por lo tanto, son de importancia tanto para la síntesis de productos químicos, agroquímicos y farmacéuticos como son: el diltiazem (fármaco cardíaco)³ y (-)-aegeline (agente hipoglucemiante)⁴ entre otros.

Las plantas son las principales fuentes de HNL, hoy en día, se han descubierto y caracterizado varias HNL que son utilizadas a nivel industrial con excelentes enantioselectividades para (S)- o (R)-estereoisómeros.² Para la obtención de (R)-estereoisómeros, se han reportado en hojas y semillas de *Eriobotrya japonica*, *Prunus mume*, *Passiflora edulis*, *Prunus dulcis*, *Arabidopsis thaliana* y en las semillas de mamey (*Pouteria sapota*).^{5,6} *Pouteria sapota* es una de las pocas fuentes de HNL que cataliza la adición enantioselectiva de HCN a benzaldehídos orto-sustituídos para dar el correspondiente (R)-mandelonitrilo orto-sustituído, con alta conversión y exceso enantiomérico (*ee*).⁶

La reacción biocatalizada por HNL tiene ventajas sustanciales en comparación con los enfoques químicos, son fáciles de usar en medios acuosos o disolventes orgánicos saturados de agua, ofrecen altas velocidades de reacción, excelentes enantioselectividades para (S)- o (R)-estereoisómeros.² Sin embargo, entre los inconvenientes de las enzimas se encuentran que pueden ser desactivadas por la concentración de reactivos, disolvente, temperatura, además de que no son reutilizables. Una forma de proteger, recuperar y reutilizar la enzima

es la inmovilización, además el producto se puede separar fácilmente de la mezcla de reacción, y después del acondicionamiento adecuado, la enzima se puede reciclar, también se ha reportado que la actividad y la selectividad pueden mejorar.^{7,8}

La celita ha sido utilizada ampliamente para la inmovilización no covalente de diferentes tipos de enzimas, es un procedimiento de inmovilización simple y de bajo costo.^{9,10} Se han reportado varios ejemplos de inmovilización de HNL sobre celita con buenos resultados, por ejemplo las HNL de *P. dulcis*,¹¹ *B. montanum*,¹² *Arabidopsis thaliana*^{13,14} y *M. esculenta*,¹⁵ en donde han demostrado que las enzimas son estables y se pueden utilizar repetidamente, observándose buenas conversiones y enantioselectividad.

Se sabe que las características físicas de los sustratos utilizados en la inmovilización son importantes para la actividad biocatalítica de la enzima, sin embargo, no se discuten las características de la celita, ni la influencia que esta podría tener en la actividad enzimática. Por lo anterior, en esta investigación se comparó la actividad enzimática de HNL semipurificada de *P. sapota* inmovilizada en 3 diferentes tipos de celita con diferentes tamaños de partícula, utilizando como reacción de referencia la adición de HCN a benzaldehído por obtener (*R*)-mandelonitrilo.

OBJETIVO

Comparar la actividad enzimática de HNL semipurificada de *P. sapota* inmovilizada en 3 diferentes tipos de celita con diferentes tamaños de partícula, utilizando como reacción de referencia la adición de HCN a benzaldehído por obtener (*R*)-mandelonitrilo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los disolventes fueron grado analítico de Tecsiquim, el benzaldehído y el mandelonitrilo se adquirieron de Sigma-Aldrich. El % exceso enantiomérico (%ee) se determinó por cromatografía de líquidos, usando un cromatógrafo Agilent serie 1100, equipado con una columna Chiralcel® OJ-H (250 × 4,6 mm, 5 µm, Daicel® Chemical Industries) y un detector de arreglo de diodos, eluyente fue una mezcla de hexano y alcohol isopropílico. La conversión se determinó en un cromatógrafo de gases Hewlett Packard Serie 6890 A, equipado con un detector de ionización de llama, columna HP-5 (30 m × 0,33 mm, 0,25 µm, Agilent Technologies) a 160 °C, con N₂ como gas portador a 0.8 mL min⁻¹.

- **Harina desgrasada de semillas de *P. sapota* como fuente cruda de HNL**

Las semillas de *P. sapota* se obtuvieron de frutos maduros comprados en un mercado local. Se quitó la capa superior y el tegumento de las semillas, molieron con acetona en una licuadora, a 4 °C, la suspensión se filtró y el proceso se repitió tres veces, el polvo resultante se secó, tamizó y se utilizó como fuente de *R*-HNL (HNLHD), se almacenó a 4 °C hasta su uso.⁵

- **HNL semipurificada**

La harina desgrasada (3 g) se suspendió en 45 mL de agua desionizada y se homogeneizó con un ultraturrax por 10 min a 0 °C, luego se centrifugó a 4000 rpm por 15 min a 5 °C, se recuperaron 35 mL de sobrenadante. El extracto acuoso de harina desgrasada (HNLEA) se liofilizó (-47 °C y 0,242 mbar) y se usó como HNL semipurificada (HNLSP) o como fuente de HNL para inmovilizar en celita.

- **Inmovilización de la HNL semipurificada**

La inmovilización se realizó utilizando 3 tipos de celita: Standard Super Cel® fine (SF), Celite® 560 (560) y celita sin caracterización (NB), se utilizó una relación 1:4 de HNL:celita. 3 g de celita previamente lavada se mezclaron con 35 mL de acetona, la suspensión se enfrió a 0 °C y se agitó magnéticamente (30 min), luego se adicionaron 35 mL del extracto de harina desgrasada previamente preparado la suspensión gota a gota a 0 °C, la mezcla se agitó 2 h a 0 °C, se filtró y el sólido se secó en una campana de extracción.

- **Actividad enzimática de HNL y determinación de proteínas**

La actividad de la HNL presente en el extracto acuoso, liofilizado y la inmovilizada se determinó siguiendo la conversión de mandelonitrilo a benzaldehído por 10 min. Las diversas fuentes de HNLHD, HNLSP o la HNL inmovilizada (3, 10 y 20 mg respectivamente) se suspendieron en 25 mL de solución amortiguadora de citratos (0.2 M, pH 5.0), la mezcla agitó durante 60 min a 5°C, se centrifugó a 4000 rpm, 5min, 5°C. A 3.5 mL del sobrenadante, fuente de HNL, se agregaron 500µL de una solución de mandelonitrilo (equivalente a 0.084µmol) en la solución amortiguadora de citratos. Cada minuto se determinó la absorbancia de la mezcla de reacción a $\lambda_{249 \text{ nm}}$, durante 10 min. Una unidad de actividad de HNL se define como la cantidad de HNL que produce 1.0 µmol de benzaldehído en 1 min en las condiciones del ensayo. La concentración de proteína se determinó utilizando albúmina de suero bovino como estándar, por el método de Lowry et al. (1951).

- **Análisis estadístico**

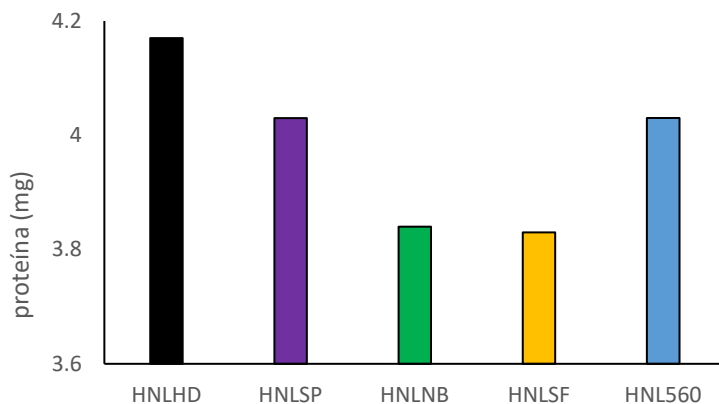
El análisis estadístico se realizó con análisis de varianza unidireccional (ANOVA) seguido de HDS de Tukey-Kramer Test, $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo utilizando el software JMP versión 13 (SAS Institute Inc., North Caroline, EE. UU.). Los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar.

RESULTADOS

- **Contenido de proteína**

Las enzimas son proteínas que catalizan alguna reacción química en los sistemas biológicos. Estas enzimas se pueden utilizar para catalizar reacciones en el laboratorio, en muchas ocasiones se pueden utilizar enzimas sin purificar, con la ventaja de evitar los largos y a veces costosos procesos de purificación, además algunas veces durante el proceso de purificación las enzimas se pueden inactivar. Como fuente de HNL se utilizaron la harina desengrasada

de semilla de mamey (HNLHD), el extracto acuoso de la harina desengrasada (HNLEA), el liofilizado de HNLEA, que se utilizó como HNL semipurificada (HNLSP), y la enzima inmovilizada sobre tres tipos de celita con diferentes tamaños de partícula, HNL560, HNLSF y HNLNB. Se evaluó el contenido de proteína a cada una de las fuentes de HNL mencionadas, los resultados se observan en la **gráfica 1**.

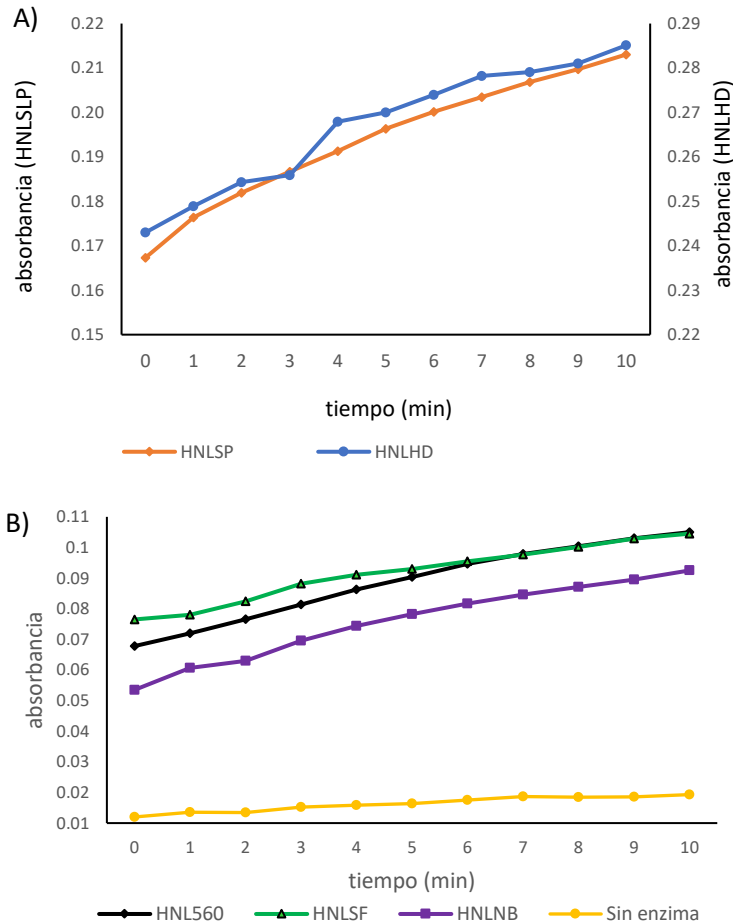


Gráfica 1. Contenido de proteína en harina desengrasada de semilla de mamey (HNLHD), semipurificada (HNLSP), inmovilizada sobre celita (HNL560, HNLSF y HNLNB).

En la **gráfica 1** se observa que la cantidad de proteína que se adsorbió fue dependiente del tamaño de partícula de la celita, las partículas más grandes son las de 560, luego las NB y las más pequeñas son las de SF, en estas dos últimas se retuvo la menor cantidad de proteína con respecto a la fuente original que es la harina desengrasada (HNLHD).

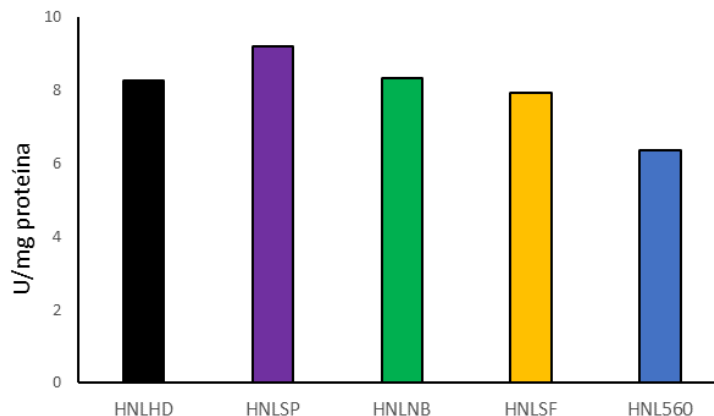
- **Actividad enzimática**

Para determinar la actividad enzimática de las fuentes de HNL se utilizó la reacción de descomposición de mandelonitrilo a benzaldehído durante 10 min, para comprobar que el mandelonitrilo no se descompone en el medio acuoso en ese tiempo se llevó a cabo una reacción sin enzima. En la **gráfica 2** se observan el curso de las reacciones estudiadas, la pendiente de cada recta fue: 4.1×10^{-3} para HNLHD, 4.4×10^{-3} para HNLSP, 3.8×10^{-3} para HNL560, 2.9×10^{-3} para HNLSF y HNLNB, sin enzima 7×10^{-4} . Con estos resultados se puede concluir que la descomposición de mandelonitrilo a benzaldehído se debe a la acción de la HNL, ya que en ausencia de la enzima no se observó benzaldehído.



Gráfica 2. Cinética de reacción de mandelonitrilo a benzaldehído, utilizando A) HNLHD y HNLSP, B) HNL inmovilizadas con diferentes celitas HNLNB, HNL560, HNL560 y control negativo (sin enzima).

En la **gráfica 3** se observa que la actividad enzimática fue mayor en HNSP, es decir que la semi purificación permitió tener una fuente más rica enzima que la harina desengrasada, mientras que la actividad fue similar en HNLHD, HNSP y HNLNB. Aunque la cantidad de proteína fue mayor en HNL560 que en HNLSP y HNLNB, los resultados indican que no necesariamente fue la mayor cantidad de HNL.



Gráfica 3. Actividad enzimática específica (mmol/min* mg proteína) de HNLHD, HNLSF, HNLNB, HNL560, HNLSP

CONCLUSIONES

La inmovilización de proteína proveniente de la harina desengrasada de la semilla de mamey (*P. Sapota*) por adsorción sobre celita, fue dependiente del tamaño de partícula de la celita, pero la actividad enzimática no fue mayor en el inmovilizado con mayor contenido de proteína. La HNL semipurificada tuvo la mayor actividad enzimática específica y fue similar entre la de la harina desengrasada y las inmovilizadas sobre celita NB y SF. La HNL inmovilizada sobre la celita 560 que presenta un mayor tamaño de partícula tiene influencia sobre la actividad enzimática específica.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Isobe, K.; Kitagawa, A.; Kanamori, K.; Kashiwagi, N.; Matsui, D.; Yamaguchi, T.; Fuhshuku, K.-I.; Semba, H.; Asano, Y. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2018**, *82* (10), 1760–1769.
- (2) Bracco, P.; Busch, H.; Langermann, J. von; Hanefeld, U. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14* (27), 6375–6389.
- (3) Matthews, B. R.; Jackson, W. R.; Jayatilake, G. S.; Wilshire, C.; Jacobs, H. A. *Aust. J. Chem.* **1988**, *41* (11), 1697–1709.
- (4) Brown, R. F. C.; Jackson, W. R.; McCarthy, T. D. *Tetrahedron Asymmetry* **1993**, *4* (2), 205–206.
- (5) Solís, A.; Luna, H.; Manjarrez, N.; Pérez, H. I. *Tetrahedron* **2004**, *60* (46), 10427–10431.
- (6) Martínez-Casares, R. M.; Pérez, H.; Manjarrez, N.; Solís-Oba, M.; Ortega, L.; Solís, A. *Ind. Crops Prod.* **2020**, *153*, 112606.
- (7) Bolívar, J. M.; Eisl, I.; Nidetzky, B. *Catal. Today* **2016**, *259*, 66–80.
- (8) Basso, A.; Serban, S. *Mol. Catal.* **2019**, *479*, 110607.
- (9) Cesarini, S.; Infanzón, B.; Pastor, F. I. J.; Diaz, P. *BMC Biotechnol.* **2014**, *14* (1), 27.
- (10) Aggarwal, S.; Chakravarty, A.; Ikram, S. A. *Int. J. Biol. Macromol.* **2021**, *167*, 962–986.
- (11) Bracco, P.; Torrelo, G.; Noordam, S.; de Jong, G.; Hanefeld, U. *Catalysts* **2018**, *8* (7), 287.
- (12) Jangir, N.; Padhi, S. K. *Bioorganic Chem.* **2019**, *84*, 32–40.
- (13) Okrob, D.; Paravidino, M.; Orru, R. V. A.; Wiechert, W.; Hanefeld, U.; Pohl, M. *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353* (13), 2399–2408.
- (14) Rao, D. H. S.; Shivani, K.; Padhi, S. K. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2021**, *193* (2), 560–576.
- (15) Leemans, L.; van Langen, L.; Hollmann, F.; Schallmey, A. *Catalysts* **2019**, *9* (6), 522.

Actividad biocatalítica de hidroxinitrilo liasa de *Pouteria sapota* inmovilizada.

Clarissa Acosta Ovando¹, Aida Solís Oba^{1*}, R. Marlen Martínez Casares¹, Liliana Hernández Vázquez¹, Julia Cassani Hernández¹, Héctor Luna Contla¹

¹ Departamento de Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, Col. Villa Quietud, Coyoacán, 04960, Ciudad de México, México.

*asolis@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Hidroxinitrilo liasas, Inmovilización, celita, (*R*)-mandelonitrilo, *Pouteria Sapota*

INTRODUCCIÓN

Las cianohidrinás son bloques de construcción valiosos y versátiles en química orgánica, se convierten fácilmente para producir α -hidroxialdehídos o α -hidroxicetonas, β -aminoalcoholes o α -fluorocianuros y muchos otros compuestos.¹ Por lo tanto, son de importancia tanto para la síntesis de productos químicos, agroquímicos y farmacéuticos.

Las cianohidrinás ópticamente activas, pueden ser obtenidas mediante biocatálisis empleando hidroxinitrilo liasas (HNL) como biocatalizadores, las HNL estas enzimas catalizan la adición enantioselectiva de HCN a aldehídos o cetonas.²

Las HNL se han encontrado en las semillas de diversas plantas, principalmente en el género *Prunus*, por ejemplo, las (*R*)-HNL que se han obtenido de semilla de almendra, cereza, durazno y capulín; otro género en donde se han reportado es en las semillas de *Pouteria sapota*,^{3,4} que cataliza la adición enantioselectiva de HCN a benzaldehídos orto-sustituidos para dar el correspondiente (*R*)-mandelonitrilo orto-sustituido, con alta conversión y exceso enantiomérico (*ee*).⁴

Las HNL han demostrado ser versátiles, estables y económicamente atractivos, pudiéndose obtener productos que son difíciles de preparar por métodos químicos convencionales.⁵ Algunos de los inconvenientes del uso de enzimas es que pueden ser desactivadas por la concentración de reactivos, disolvente, temperatura, además de que no son reutilizables. Una herramienta utilizada para logra proteger, recuperar y reutilizar la enzima es la inmovilización en soportes adecuados, al inmovilizar la enzima el producto se puede separar fácilmente de la mezcla de reacción, se ha reportado que la actividad y la selectividad pueden mejorar.^{6,7}

Se han reportado diferentes tipos de inmovilización, dentro de las más utilizadas encontramos la inmovilización no covalente sobre celita, es un procedimiento de inmovilización simple y de bajo costo.⁸⁻¹⁰ Se han reportado varios ejemplos de inmovilización de HNL sobre celita con buenos resultados, por ejemplo, las HNL de *P.*

dulcis,¹ *B. montanum*,¹¹ *Arabidopsis thaliana*^{12,13} y *P. Sapota*,¹⁴ en donde han demostrado que las enzimas son estables y se pueden utilizar repetidamente, observándose buenas conversiones y enantioselectividad.

En los trabajos anteriores se ha discutido sobre la importancia de las características físicas de los sustratos utilizados para la actividad biocatalítica de la enzima, sin embargo, no se discuten las características de la celita ni la influencia que esta podría tener en la actividad biocatalítica. Por lo anterior, en esta investigación se comparó la actividad biocatalítica de HNL semipurificada de *P. sapota* inmovilizadas en 3 diferentes tipos de celita: una sin caracterizar (NB-celita), SF-celita con tamaño de partícula <14µm y 560-celita con tamaño de partícula <148.5 µm, las HNL inmovilizadas se compararon con la HNL en la harina desengrasada y la HNL semipurificada y se evaluó la capacidad de reciclarlas, utilizando como reacción de referencia la adición de HCN a benzaldehído por obtener (*R*)-mandelonitrilo

OBJETIVOS

Comparar la actividad biocatalítica de HNL semipurificada de *P. sapota* inmovilizadas en 3 diferentes tipos de celita para la obtención de (*R*)-mandelonitrilo.

Comparar la capacidad de reciclaje de HNL semipurificada de *P. sapota* inmovilizadas en 3 diferentes tipos de celita para la obtención de (*R*)-mandelonitrilo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los disolventes fueron grado analítico de Tecsiquim, el benzaldehído y el mandelonitrilo se adquirieron de Sigma-Aldrich. El % exceso enantiomérico (%ee) se determinó por cromatografía de líquidos, usando un cromatógrafo Agilent serie 1100, equipado con una columna Chiralcel® OJ-H (250 × 4,6 mm, 5 µm, Daicel® Chemical Industries) y un detector de arreglo de diodos, eluyente fue una mezcla de hexano y alcohol isopropílico. La conversión se determinó en un cromatógrafo de gases Hewlett Packard Serie 6890 A, equipado con un detector de ionización de llama, columna HP-5 (30 m × 0,33 mm, 0,25 µm, Agilent Technologies) a 160 °C, con N₂ como gas portador a 0.8 mL min⁻¹.

- **Harina desengrasada de semillas de *P. sapota* como fuente cruda de HNL**

Las semillas de *P. sapota* se obtuvieron de frutos maduros comprados en un mercado local. Se quitó la capa superior y el tegumento de las semillas, molieron con acetona en una licuadora, a 4 °C, la suspensión se filtró y el proceso se repitió tres veces, el polvo resultante se secó, tamizó y se utilizó como fuente de R-HNL (HNL-HD), se almacenó a 4 °C hasta su uso.³

- **HNL semipurificada**

La harina desengrasada (3 g) se suspendió en 45 mL de agua desionizada y se homogeneizó con un ultraturrax por 10 min a 0 °C, luego se centrifugó a 4000 rpm por 15 min a 5 °C, se

recuperaron 35 mL de sobrenadante. El extracto acuoso de harina desgrasada se liofilizó (-47 °C y 0,242 mbar) y se usó como HNL semipurificada (HNL-sp) o como fuente de HNL para inmovilizar sobre celita.

- **Inmovilización de la HNL semipurificada**

La inmovilización se realizó utilizando 3 tipos de celita: Standard Super Cel® fine (SF), Celite® 560 (560) y celita sin caracterización (NB), se utilizó una relación 1:4 de HNL:celita

3 g de celita lavada se mezclaron con 35 mL de acetona, la suspensión se enfrió a 0 °C y se agitó magnéticamente (30 min), luego se adicionaron 35 mL del extracto de harina desgrasada previamente preparado la suspensión gota a gota a 0 °C, la mezcla se agitó 2 h a 0 °C, se filtró y el sólido se secó en una campana de extracción.

- **Adición biocatalizada de HCN a benzaldehído**

El HCN de una solución amortiguadora de KCN/ácido cítrico (0.55 mL, 1 N, pH 5.0, 1.5 eq.) se extrajo con DIPE (2 × 2 mL). Al DIPE saturado con HCN se le añadió 5 % (v/v) de la solución amortiguadora KCN/citratos (pH 5, 0,1 M) y HNL-sp, HNL-HD ó NB-celita, 560-celita, SF-celita. La mezcla se agitó durante 10 min a 5 °C, la reacción se inició mediante la adición de benzaldehído (0.35 mmol) y se agito a 5 °C, se tomaron muestras (400 µL) a intervalos regulares (5, 24 y 48h), se secaron con sulfato de sodio anhidro. Del muestreo anterior se tomaron 50 µL y se diluyeron con 200 µL con hexano: alcohol isopropílico (90:10) y se analizaron por HPLC para determinar el *ee*. Los 350 µL restantes se utilizaron para la formación de acetatos y determinación del % conversión por CG. Las reacciones se realizaron por triplicado.

Estudio de reciclado de la HNL: Se pesaron 30 mg de HNL-sp, 100 mg de HNL-HD o 200 mg de HNL-Celite (NB-celita, 560-celita, SF-celita) se colocaron en bolsitas de malla de nylon (0.025 mm) para eliminar fácilmente del medio de reacción. Se reciclaron tres veces consecutivas durante 24h, como se describe en la adición de HCN a benzaldehído. Las bolsitas se lavaron entre cada ciclo de reacción con DIPE puro y se almacenaron a 5°C hasta su reutilización. Los experimentos se realizaron por triplicado.

Formación de acetatos de cianohidrinis para determinar el % de conversión por GC: El acetato del mandelonitrilo se utilizó para determinar la conversión por GC. El mandelonitrilo (3.25 mg) se mezcló con 350 mL de diclorometano, 10 µL de anhídrido acético y 10 µL de trietilamina, se agitó 24 h a temperatura ambiente, se lavó con agua, se secó con Na₂SO₄ y se analizó por GC.

- **Análisis estadístico**

Se realizó con análisis de varianza unidireccional (ANOVA) seguido de HDS de Tukey-Kramer Test, $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo utilizando el

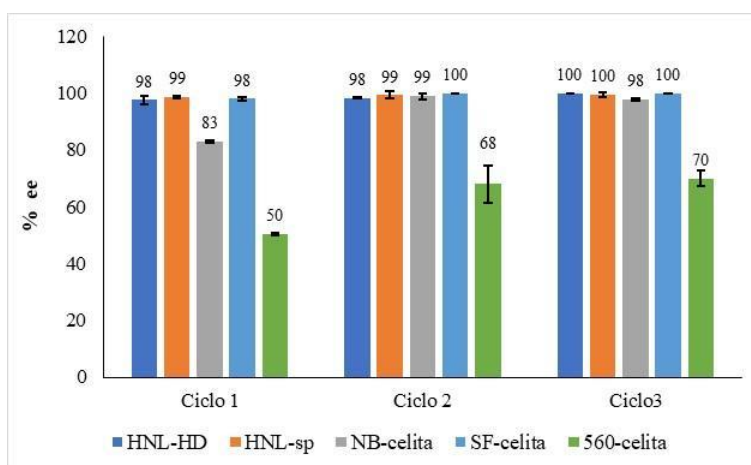
software JMP versión 13 (SAS Institute Inc., North Caroline, EE. UU.). Los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar.

RESULTADOS

En la **gráfica 1** se muestran los % de *ee* de mandelonitrilo, en el estudio de reciclado de HNL-HD, HNL-sp y de las HNL inmovilizadas sobre celita (NB-celita, SF-celita y 560-celita). En el primer ciclo con HNL-sp y SF-celita se obtuvo $>98\%$ de *ee*, en los siguientes ciclos la actividad catalítica fue similar >98 . Para NB-celita en el primer ciclo de uso se obtuvo un % de *ee* de 83%, en los ciclos 2 y 3, el % *ee* fue de $>99\%$. Sin embargo, en el caso del biocatalizador inmovilizado en 560-celita en el primer ciclo se obtuvo un 50% de %*ee*, en los ciclos 2 y 3 el % de *ee* aumento en un 20%.

La harina desengrasada de la semilla de mamey (HNL-HD), la HNL semipurificada, los biocatalizadores inmovilizados en celita sin caracterización (NB-celita) y en celita super fina (SF-celita), se puede reutilizar 3 ciclos con %*ee* $>$ al 98% favoreciendo la obtención de (*R*)-mandelonitrilo.

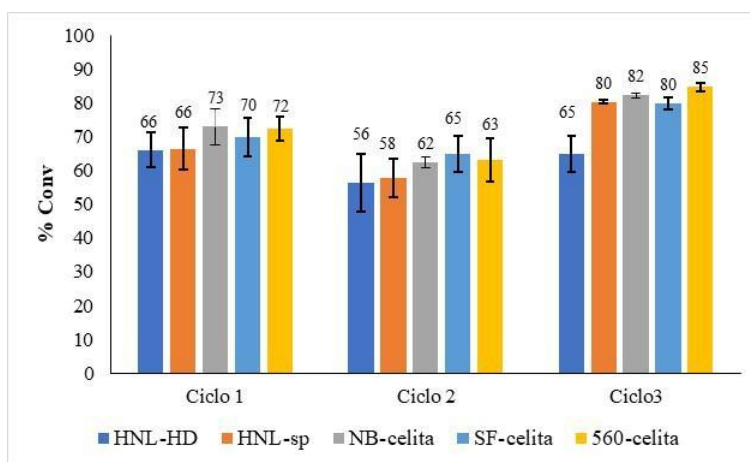
Sin embargo, al inmovilizar el biocatalizador sobre Celite® 560, el %*ee* fue $<70\%$, con estos datos podemos asumir que se está favoreciendo la reacción química, la reacción química se minimiza, al disminuir el pH y la temperatura. Sin embargo, las características fisicoquímicas reportadas de la celita 560 son: tamaño de partícula $< 148.5 \mu\text{m}$, fue tratada con carbonato de calcio, un pH $>$ a 8.5 en suspensión al 10%, el pH alto favorece la reacción química.



Gráfica 1. % (*R*)-mandelonitrilo por adición de HCN a benzaldehído, reciclando la HNL en tres ciclos de reacciones sucesivas. Harina desengrasada de semillas (HNL-HD), HNL semipurificada (HNL-sp), HNL inmovilizada en celita agranel (NB-celita), HNL

inmovilizada en Celite® 560 (560-celita), HNL inmovilizada en Standard Super Cel® fine (SF-celita).

En la **gráfica 2** se muestran los % de conversión de benzaldehído a mandelonitrilo, en el reciclado de HNL-HD, HNL-sp y de las HNL inmovilizadas en los diferentes tipos de celita (NB-celita, SF-celita y 560-celita). En el ciclo 1 el % de conversión de benzaldehído a mandelonitrilo fue >66%, en todos los casos. Para el ciclo 2 el % de conversión fue > 56% con todas las HNL evaluadas. Por otro lado, en el ciclo 3 se obtuvo un % de conversión mayor a lo obtenido en los ciclos 1 y 2; con todas las fuentes de HNL la conversión fue >80%, excepto con HNL-HD, que fue 65%. Al utilizar los biocatalizadores HNL-sp, NB-celita, SF-celita y 560-celita, se observa un incremento en la conversión durante el ciclo 3, comparando con los ciclos anteriores.



Gráfica 2. Biotransformación de benzaldehído a (*R*)-mandelonitrilo, reciclando la HNL en tres ciclos de reacciones sucesivas. Harina desgrasada de semillas (HNL-HD), HNL semipurificada (HNL-sp), HNL inmovilizada en celita agranel (NB-celita), HNL inmovilizada en Celite® 560 (560-celita), HNL inmovilizada en Standard Super Cel® fine (SF-celita).

CONCLUSIONES

La actividad biocatalítica de las HNL inmovilizadas son iguales a las de HNL-HD y HNL-sp, en los ciclos 1 y 2 no se observa diferencia en el % de conversión, pero en el tercer ciclo las HNL inmovilizadas son superiores en >15% para biotransformar a benzaldehído en mandelonitrilo. Las HNL inmovilizadas mantienen su actividad biocatalítica, además, se pueden reciclar al menos 3 veces. Las HNL inmovilizadas en los diferentes tipos de celita no mostraron diferencia en la conversión de benzaldehído a mandelonitrilo. La selección del soporte es importante, se observó que al utilizar 560-celita debido a sus características se ve favorecida la reacción química, lo que disminuye el %ee.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Bracco, P.; Busch, H.; Langermann, J. von; Hanefeld, U. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14* (27), 6375–6389.
- (2) Wu, W.-B.; Yu, J.-S.; Zhou, J. Catalytic Enantioselective Cyanation: Recent Advances and Perspectives. *ACS Catal.* **2020**, *10* (14), 7668–7690.
- (3) Solís, A.; Luna, H.; Manjarrez, N.; Pérez, H. I. *Tetrahedron* **2004**, *60* (46), 10427–10431.
- (4) Martínez-Casares, R. M.; Pérez, H.; Manjarrez, N.; Solís-Oba, M.; Ortega, L.; Solís, A. *Ind. Crops Prod.* **2020**, *153*, 112606. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112606>.
- (5) Holt, J.; Hanefeld, U. Enantioselective Enzyme-Catalysed Synthesis of Cyanohydrins. *Curr. Org. Synth.* **2009**, *6* (1), 15–37.
- (6) Bolivar, J. M.; Eisl, I.; Nidetzky, B. *Catal. Today* **2016**, *259*, 66–80.
- (7) Basso, A.; Serban, S. *Mol. Catal.* **2019**, *479*, 110607.
- (8) Cesarini, S.; Infanzón, B.; Pastor, F. I. J.; Diaz, P. *BMC Biotechnol.* **2014**, *14* (1), 27.
- (9) Chauhan, S.; Vohra, A.; Lakhanpal, A.; Gupta, R. *J. Food Process. Preserv.* **2015**, *39* (6), 2135–2141.
- (10) Aggarwal, S.; Chakravarty, A.; Ikram, S. A. *Int. J. Biol. Macromol.* **2021**, *167*, 962–986.
- (11) Jangir, N.; Padhi, S. K. *Bioorganic Chem.* **2019**, *84*, 32–40.
- (12) Okrob, D.; Paravidino, M.; Orru, R. V. A.; Wiechert, W.; Hanefeld, U.; Pohl, M. *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353* (13), 2399–2408.
- (13) Rao N, V.; Mane, S.; Kishore, A.; Das Sarma, J.; Shunmugam, R. *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 221.
- (14) Solís, A.; Cano, A.; Martínez-Casares, R. M.; Solís-Oba, M.; Castro-Rivera, R.; Flores, O. V. *Biocatal. Biotransformation* **2022**, *0* (0), 1–9.

EFECTO DE LA FERTILIZACIÓN SOBRE LA ACTIVIDAD REDUCTASA DE LOS FRIJOL VAQUITA Y SAN RAFAEL

**Clarissa Acosta Ovando¹, Ana Rosa Sánchez Camarillo², R. Marlen Martínez-Casares^{1*}, Myrna Solís-Oba³,
Aida Solís Oba¹, Rigoberto Castro-Rivera³**

¹ Departamento de Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud,
Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, Calz. del Hueso 1100, Coapa, Villa Quietud,
Coyoacán, C.P. 04960, Ciudad de México.

² Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional, Ex hacienda San Juan
Molino, C.P. 90700, Tepetitla de Lardizabal, Tlaxcala, México.

³ Doctorado en Ciencias en Biotecnología, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto
Politécnico Nacional, Ex hacienda San Juan Molino, C.P. 90700, Tepetitla de Lardizabal, Tlaxcala, México

*rmartinezc@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: biocatálisis, reducción enzimática, *Phaseolus vulgaris*, benzaldehído, alcohol bencílico.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el alcohol bencílico es ampliamente utilizado para la preparación de saborizantes, perfumería, plastificantes, desinfectantes, colorantes, diluyentes, entre otros.¹

El alcohol bencílico puede ser obtenido a partir de la reducción de benzaldehído por diversos sistemas de reducción que presentan altos rendimientos; sin embargo, la mayoría de estas reacciones utilizan metales pesados y disolventes orgánicos como medio de reacción, lo que implica un aumento en los costos de operación y mayor daño al medio ambiente.² Una alternativa atractiva es el uso de biocatalizadores de fuentes vegetales, que han demostrado algunas ventajas como ser de mayor accesibilidad por sus bajos costos, amplia variedad existente de plantas, alta versatilidad y eficiencia, fácil separación de los productos de la mezcla de reacción por filtración o centrifugación, fácil disposición de los residuos, entre otras.³

Los biocatalizadores de fuentes vegetales, como las aldocetoreductasas, son enzimas que catalizan la biotransformación del grupo carbonilo de aldehído o cetonas a sus alcoholes correspondientes y viceversa.⁴ Se ha reportado que en las plantas, las aldocetoreductasas desempeñan numerosas funciones en el metabolismo de esteroides, azúcares y degradación de carbonilos.⁵ Estas enzimas contribuyen a la desintoxicación generada por especies reactivas de oxígeno, reduciendo los grupos carbonilo α,β -insaturados y compuestos tóxicos para producir los alcoholes correspondientes.⁶ También degradan feniletanol a ácido fenilacético (el cual se reconoce como una fitohormona o auxina natural) para regular el crecimiento del vegetal.⁷

Las diferentes variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris*) han mostrado ser fuentes de reductasas, que se pueden usar para la obtención de alcohol bencílico a partir de benzaldehído. Solís Oba, *et al.* (2019) utilizaron las variedades de frijol Pinto, Bayo, Negro, Ayocote y Flor de Mayo para la conversión de benzaldehído, logrando obtener 100% de reducción con todas estas variedades.²

Con la finalidad de aumentar la productividad del cultivo del frijol, se aplican diversos tipos de fertilizantes, orgánicos e inorgánicos, pero no se ha estudiado el efecto que tienen estos fertilizantes sobre la actividad reductasa. En un estudio llevado a cabo en el CIBA del IPN, se utilizaron diferentes cantidades de fertilizante químico (urea/superfosfato triple) y fertilizante orgánico (extracto de sargazo), así como la combinación de ambos fertilizantes, para mejorar la producción de frijol San Rafael y Vaquita. Después de que se cosecharon los frijoles de

ambas variedades, con los diferentes esquemas de fertilización, se obtuvieron muestras para evaluar su actividad reductasa y determinar el efecto que tiene la fertilización sobre dicha actividad. Como reacción modelo, se estudió la conversión de benzaldehído a alcohol bencílico.

OBJETIVO

Evaluar el efecto de la fertilización orgánica, mineral y orgánica-mineral en las propiedades biocatalíticas de dos variedades de frijol (Vaquita y San Rafael) utilizando como reacción de referencia la conversión de benzaldehído a alcohol bencílico.

MATERIALES Y MÉTODOS

El benzaldehído y el alcohol bencílico utilizados fueron adquiridos de Sigma-Aldrich. Todos los disolventes fueron adquiridos de J.T. Baker y Techroom. Las semillas de *Phaseolus vulgaris* (Vaquita y San Rafael) fueron cultivadas en CIBA Tlaxcala y fertilizados en condiciones diferentes: con 3 concentraciones de fertilizante a base de sargazo “Algaenzims” (0.03 ml, 0.06 ml y 0.1 ml) y 3 concentraciones de fertilización mineral: urea (fuente de N₂) y superfosfato triple de calcio (SFT, fuente de P₂O₅) (0, 0.95 g /1.357 g, 1.075 g /1.487 g y 1.212 g /1.625 g respectivamente), así como la combinación de estos fertilizantes, además de un control negativo sin fertilizante. Los 16 tratamientos evaluados se muestran en la **tabla 1**.

Tabla 1. Fertilización de cultivo de frijol usando extracto de sargazo (fertilizante orgánico, FO) y fertilización con urea/superfosfato triple (fertilizante mineral, FM) y sus combinaciones.

Nivel de tratamiento orgánico (sargazo)	Nivel de tratamiento mineral (urea/super fosfato triple)	Fertilización orgánica (FO) y mineral (FM)	Concentración de fertilizante orgánico (mL/maceta)	Concentración de fertilizante mineral (urea/superfosfato triple) (g/maceta)
S0	M0	C- (S0-M0)	0	0
S0	M1	S0-M1	0	0.95 y 1.357
S0	M2	S0-M2	0	1.075 y 1.487
S0	M3	S0-M3	0	1.212 y 1.625
S1	M0	S1-M0	0.03	0
S1	M1	S1-M1	0.03	0.95 y 1.357
S1	M2	S1-M2	0.03	1.075 y 1.487
S1	M3	S1-M3	0.03	1.212 y 1.625
S2	M0	S2-M0	0.06	0
S2	M1	S2-M1	0.06	0.95 y 1.357
S2	M2	S2-M2	0.06	1.075 y 1.487
S2	M3	S2-M3	0.06	1.212 y 1.625

S3	M0	S3-M0	0.1	0
S3	M1	S3-M1	0.1	0.95 y 1.357
S3	M2	S3-M2	0.1	1.075 y 1.487
S3	M3	S3-M3	0.1	1.212 y 1.625

Sargazo (S), Mineral (M), Nivel de fertilización orgánica (NFO), Nivel de fertilización mineral (NFM), Control negativo (C-)

- **Obtención de extractos enzimáticos**

Las semillas de frijol Vaquita (Va) y San Rafael (SR) se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio al 5% durante 10 min, se lavaron con agua destilada y se dejaron secar. Se pesaron 5 g de semillas y se pulverizaron en un molino para café Hamilton Beach 80374, la harina obtenida se tamizó y se mezcló con solución amortiguadora de HEPES 0.2 M a pH 8.1 (1:4 p/v) y se agitó mecánicamente por 1 h, se centrifugó a 4000 rpm/5°C/10 min. El sobrenadante (extracto acuoso), se decantó y se utilizó para la biorreducción del benzaldehído.

- **Evaluación de la actividad reductasa**

Biorreducción: a 1 mL de extracto acuoso, de frijol Vaquita o San Rafael, se le agregó 0.015 mmol (1.5 μ L) de benzaldehído disuelto en 48.5 μ L de isopropanol, se agitó mecánicamente a 25°C en una incubadora Enviro-Genie, después de 19 h se extrajo con éter etílico (2 x 0.5 mL), se centrifugó a 13000 rpm/5°C/5 min, se secó con sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄) y el % de conversión (% Conv) se determinó por Cromatografía de gases (CG). Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Determinación del % Conversión: se usó un cromatógrafo HP 6890, equipado con una columna HP-5 (30 m x 0.25 mm, 0.25 μ m), se utilizó como gas acarreador N₂, temperatura del inyector y detector a 250°C, temperatura del horno a 130°C y velocidad de flujo de 0.8 mL/min.

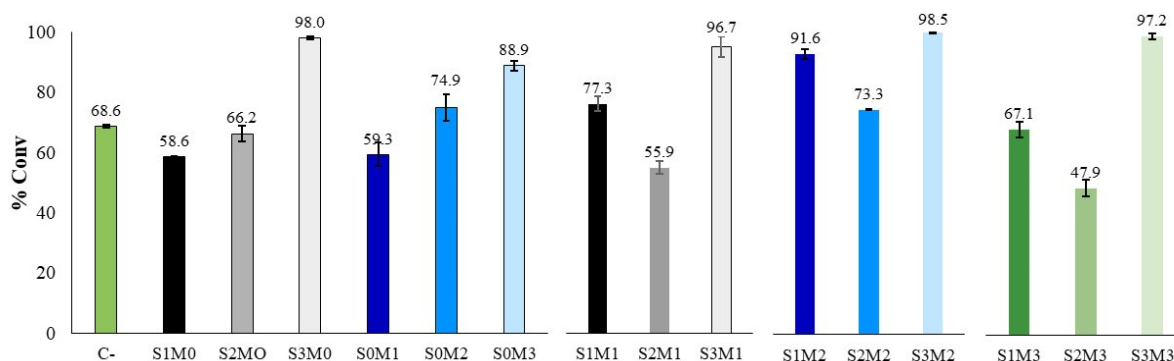
- **Análisis Estadístico de los datos**

Se realizó un análisis estadístico para evaluar la actividad reductasa con base en el % Conv de las diferentes variedades y tratamientos, utilizando el software JMP versión 13 (SAS Institute Inc., North Caroline, USA), se realizó un análisis factorial completo para evaluar la influencia de las variedades, niveles de fertilizante orgánico y mineral y las interacciones sobre el % Conv, si alguna variable mostró diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) se realizó una prueba post hoc HSD Tukey–Kramer. Todos los datos se expresan en media \pm desviación estándar (SD).

RESULTADOS

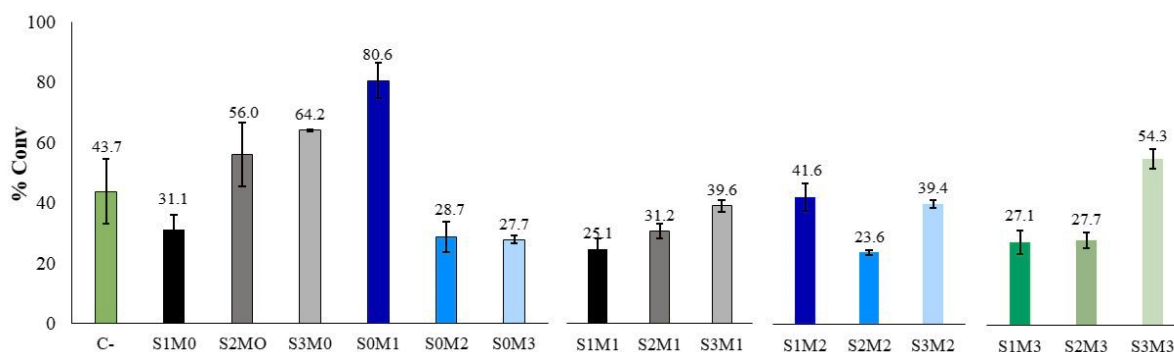
En la **gráfica 1** se presenta el % de reducción de benzaldehído a alcohol bencílico utilizando como fuente de reductasa la variedad de frijol San Rafael (SR). Se observa el mayor % de reducción (>96%) se obtiene al utilizar el FO sin FM (S3M0) y con FM (S3M1, S3M2, S3M3). También se observa que la conversión aumenta de manera directa con el incremento en la

cantidad de FO (S1M0, S2M0, S3M0) y FM FO (S0M1, S0M2, S0M3) aplicados de manera individual al cultivo.



Gráfica 1. Reducción de benzaldehído a alcohol bencílico utilizando como fuente de biocatalizador frijol San Rafael para cada uno de los 16 tratamientos de fertilización.

En la **gráfica 2** se presenta la reducción de benzaldehído a alcohol bencílico para la variedad Vaquita (Va), los % Conv son menores a los obtenidos con la variedad SR. Al igual que con la variedad SR, la reducción del benzaldehído utilizando el extracto de Va, aumenta al aumentar la cantidad de FO y FM al aplicarlos de manera individual al cultivo. El mejor resultado de reducción (80.6%) se obtuvo con la fertilización más baja de FM sin FO (S0M1), así mismo con la FO sin FM (S3M0) se obtuvo la segunda mejor conversión (64.2%). Se observa que, al combinar la fertilización orgánica y mineral, para esta variedad, se produce un efecto negativo en el % Conv con resultados por debajo del control negativo.



Gráfica 2. Reducción de benzaldehído a alcohol bencílico utilizando como fuente de biocatalizador frijol Vaquita para cada uno de los 16 tratamientos de fertilización.

De acuerdo con los resultados presentados en las gráficas y el análisis factorial completo, la variedad tiene el efecto principal sobre el % Conv, aunque San Rafael y Vaquita pertenecen a la misma especie (*Phaseolus vulgaris*), presentan diferencias en su capacidad enzimática. Esto podría explicarse por qué San Rafael es una semilla certificada que se obtiene de semillas mejoradas, mientras que Vaquita, corresponde a una semilla silvestre nativa del estado de Tlaxcala.

La fertilización orgánica tiene un efecto significativo sobre la conversión, siendo que la concentración S3 (0.1 mL/maceta) fue la que presentó el mejor % de reducción. Además, la interacción de los tres factores (variedades+NFO+NFM), también mostró un efecto importante

sobre el porcentaje de reducción. Por otro lado, la fertilización mineral tiene el menor efecto y en general los % Conv fueron más bajos comparados con la fertilización orgánica.

Los resultados obtenidos dejan en evidencia que existe una correlación entre la fertilización orgánica del suelo y un aumento en la actividad enzimática, ya que, al utilizar fertilización orgánica a base de algas, se ha reportado un aumento significativo en la longitud de la raíz, lo que mejora la absorción de nutrientes, la actividad enzimática y la activación de la señalización hormonal,⁸ aumentando los rendimientos del cultivo. Esto se ha asociado con la composición del extracto de algas, que contiene macro y micronutrientes, aminoácidos, vitaminas, citoquininas, auxinas y sustancias de crecimiento⁹ que en conjunto promueven la movilización de nutrientes y a su vez una bioestimulación positiva, mejorando la capacidad fotosintética de las hojas y no sólo proporcionar nutrientes, como lo hace el fertilizante mineral.¹⁰

Por lo anterior, se plantea que, al aumentar la concentración del fertilizante orgánico, se promueve el crecimiento (regulado por las auxinas) y también aumenta la actividad reductasa, debido a que las aldocetoreductasas están involucradas en la biosíntesis de algunas auxinas.

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos, se puede concluir que la variedad de frijol y la concentración del fertilizante orgánico, tienen un efecto significativo sobre el % Conv de benzaldehído a alcohol bencílico. Se observó que la variedad de San Rafael fue la que favoreció los mayores % Conv, en conjunto con la concentración más alta del fertilizante orgánico a base de sargazo (concentración de 0.1 mL/maceta) con y sin el fertilizante mineral, sin afectar significativamente la reducción de benzaldehído. Para la variedad de Vaquita, el mayor % Conv se obtiene con la concentración M1 del fertilizante mineral (0.95 g de urea y 1.357 g de SFT) y cuando no se adiciona fertilizante orgánico al cultivo.

BIBLIOGRAFÍA:

- (1) Valencia Gallegos, J. A.; Treviño Flores, N. N.; Blanco Jerez, L. M. *Cienc. UANL* **2003**, 6 (3).
- (2) Solís, A.; Martínez, R. M.; Cervantes, F.; Pérez, H. I.; Manjarrez, N.; Solís, M. *Biocatal. Biotransformation* **2019**, 37 (2), 152–157.
- (3) Salvano, M. S.; Cantero, J. J.; Vázquez, A. M.; Formica, S. M.; Aymar, M. L. *J. Mol. Catal. B Enzym.* **2011**, 71 (1), 16–21.
- (4) D. Gaménara; Seoane, A.; P. Saenz-Méndez; P. Domínguez de María. *Redox Biocatalysis: Fundamental and Applications*; John Wiley & Sons, Inc: Hoboken (USA), 2013.
- (5) Simpson, P. J.; Tantitadapitak, C.; Reed, A. M.; Mather, O. C.; Bunce, C. M.; White, S. A.; Ride, J. P. *J. Mol. Biol.* **2009**, 392 (2), 465–480.
- (6) Yamauchi, Y.; Hasegawa, A.; Taninaka, A.; Mizutani, M.; Sugimoto, Y. *J. Biol. Chem.* **2011**, 286 (9), 6999–7009.
- (7) Wightman, F.; Lighty, D. L. *Physiol. Plant.* **1982**, 55 (1), 17–24.
- (8) Olaetxea, M.; De Hita, D.; Garcia, C. A.; Fuentes, M.; Baigorri, R.; Mora, V.; Garnica, M.; Urrutia, O.; Erro, J.; Zamarreño, A. M.; Berbara, R. L.; Garcia-Mina, J. M. *Appl. Soil Ecol.* **2018**, 123, 521–537.
- (9) Khan, M. S.; Yang, C.; Zhao, Y.; Pan, H.; Zhao, J.; Shahzad, M. B.; Kolawole, S. K.; Ullah, I.; Yang, K. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **2020**, 189, 110858.
- (10) Yao, Y.; Wang, X.; Chen, B.; Zhang, M.; Ma, J. *ACS Omega* **2020**, 5 (8), 4242–4249.

COMPARACIÓN DE REDUCTASAS DE ORIGEN VEGETAL PARA LA REDUCCIÓN DE BENZALDEHÍDO A ALCOHOL BENCÍLICO

Elizabeth Álvarez Montalvo¹, R. Marlen Martínez Casares^{1}, Aida Solís Oba¹, Liliana Hernández Vázquez¹, Julia Cassani Hernandez¹, Héctor Luna Contla¹.*

1. Departamento de Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, Calzada del Hueso 1100, Coapa, Villa Quietud, Coyoacán, 04960, Ciudad de México.

*Correo: *rmartinezc@correo.xoc.uam.mx*

Palabras clave: biocatálisis, reducción, cáscara de chícharo, cáscara de haba.

INTRODUCCIÓN

Los procesos biocatalíticos involucran el uso de biocatalizadores en la transformación química de moléculas y ha permitido el uso de enzimas en un amplio número de reacciones aplicadas en procesos industriales.¹ Por ejemplo, entre las enzimas oxidoreductasas se encuentran las aldocetoreductasas, que catalizan la biotransformación del grupo carbonilo de aldehído o cetonas a los alcoholes correspondientes y viceversa.² Como fuentes de aldocetoreductasas se pueden utilizar las raíces, frutos, semillas y hojas de diversas plantas como frijol (*Phaseolus vulgaris*)³, brócoli (*Brassica oleracea var. italica*)⁴ entre otras.

La reducción de aldehídos y cetonas constituye una herramienta importante en química orgánica para la preparación de alcoholes, que se pueden utilizar en la síntesis de cosméticos, productos farmacéuticos y agroquímicos. Actualmente existen diversos sistemas de reducción química que garantizan altos rendimientos, sin embargo, utilizan metales difíciles de disponer una vez terminada la reacción, una alternativa atractiva es el uso de biocatalizadores de origen vegetal los cuales, frecuentemente, son baratos y fáciles de conseguir.³

Los biocatalizadores presentan ventajas frente a los catalizadores inorgánicos tradicionales como: a) una elevada especificidad, estereoselectividad y regioespecificidad; y b) una gran actividad catalítica a temperatura ambiente y presión atmosférica. A pesar de estas claras ventajas, el empleo de los biocatalizadores no se ha generalizado en la industria, debido principalmente a: (I) su limitada estabilidad ya que son proteínas que se pueden desnaturalizar, y perder totalmente su actividad; y (II) la dificultad que implica el separar el biocatalizador de los sustratos y productos en el medio de reacción, lo que impide su reutilización.⁵

Por medio de la inmovilización de enzimas se ha logrado aumentar su estabilidad, facilitando su manejo y separación en los procesos, permiten un uso continuo, aumenta su reproducibilidad, se puede reutilizar manteniendo las propiedades de la enzima, lo que convierte a este procedimiento en un proceso interesante y económicamente viable.⁶ La tecnología de inmovilización crea nuevas e interesantes oportunidades de desarrollo comercial en una amplia gama de industrias.

OBJETIVO

Evaluar y comparar la actividad reductasa de fuentes vegetales como: a) los extractos acuosos de semillas de chícharo, haba, mamey, vainas de chícharo y haba; b) liofilizados de semilla de chícharo, haba, mamey y vaina de haba; c) inmovilizados de semilla de haba, mamey y vaina de haba, utilizando como reacción de referencia la reducción de benzaldehído a alcohol bencílico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Benzaldehído y alcohol bencílico fueron adquiridos de Sigma-Aldrich. Los materiales vegetales, chícharo (*Pisum sativum*), haba (*Vicia faba*) y mamey (*Potería sapota*) se adquirieron de un mercado local de la ciudad de México.

- **Obtención de extractos enzimáticos con actividad reductasa**

Material vegetal fresco: El material vegetal se lavó con agua y jabón, se sumergió durante 1 minuto en solución de hipoclorito de sodio al 5%, se enjuagó con agua destilada y se dejó secar. El material vegetal se pesó y se molió con agua destilada (relación 1:1 o 1:2 p/v), posteriormente se centrifugó a 4000 rpm, 10 min a 5 °C, el sobrenadante (extracto acuoso) se utilizó como fuente de reductasa.

Polvos acetónicos: Las semillas de mamey se molieron en licuadora con acetona, después se filtraron en un embudo buchner, el proceso se repitió 3 veces, la harina se dejó secar a temperatura ambiente para posteriormente tamizar. A 1 g de harina desengrasada se le agregó 10 mL de agua destilada y se agitó durante 1 h, se centrifugó a 4000 rpm, 10 min a 5 °C, el sobrenadante (extracto acuoso) se usó como fuente de reductasa.

Material vegetal liofilizado: El material vegetal se lavó con agua y jabón, se sumergió durante 1 minuto en solución de hipoclorito de sodio al 5%, se enjuagó con agua destilada, se congeló y se liofilizó, finalmente se molió y se homogeneizó el tamaño de partícula.

- **Obtención de liofilizados de extracto acuoso de los materiales vegetales:**

El extracto acuoso (10 mL) se congeló, se liofilizó. Posteriormente se recuperó el polvo liofilizado, se pesó, tamizó. Los materiales liofilizados se almacenaron en refrigeración a 4°C. Para su utilización fueron regenerados con la cantidad de agua que perdieron, se dejaron agitar durante una hora, se usó la solución como fuente de enzima.

- **Inmovilización del extracto acuoso vegetal con actividad reductasa**

Inmovilizado directo: Al extracto acuoso o el polvo liofilizado (0.1g o su equivalente en volumen) reconstituido en agua, de las de semilla de haba, mamey y vaina de haba se le adicionó la celita en una relación 1:4, se agitó a 5 °C por 24 h, se congeló y liofilizó.

Inmovilizado acetónico: El extracto acuoso de la vaina de haba y acetona se enfriaron a -5°C, posteriormente a la acetona en agitación constante se le adicionó celita en una relación 1:1 (extracto acuoso: celita) y se le adicionó el extracto acuoso de vaina de haba gota a gota, se dejó en agitación durante 30 minutos, se filtró a vacío y el sólido se dejó a secar durante 24 h.

- ***Evaluación de la actividad reductasa***

Biorreducción: A 1 mL de extracto acuoso o su equivalente en peso de los liofilizados e inmovilizados (1:4), en el caso de los liofilizados e inmovilizados fueron reconstituidos con 1 mL de agua o buffer de fosfatos (0.15M, pH 8.1), se le agregó 0.015 mmol (1.5 μ L) de benzaldehído disuelto en 48.5 μ L de isopropanol, se agitó mecánicamente a 25 o 35°C, después de 24 h se extrajo con éter etílico (2 x 0.5 mL), se centrifugó, se secó con sulfato de sodio anhidro, el % de conversión (% Conv) se determinó por Cromatografía de gases (CG). Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

- ***Análisis Estadístico***

El análisis estadístico se realizó con análisis de varianza unidireccional (ANOVA) seguido de HDS de Tukey-Kramer Test, $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo utilizando el software JMP versión 13 (SAS Institute Inc., North Caroline, EE. UU.). Los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar.

RESULTADOS

- ***Evaluación de la actividad reductasa del extracto acuoso de semilla de chícharo con respecto al tiempo (24 y 48h)***

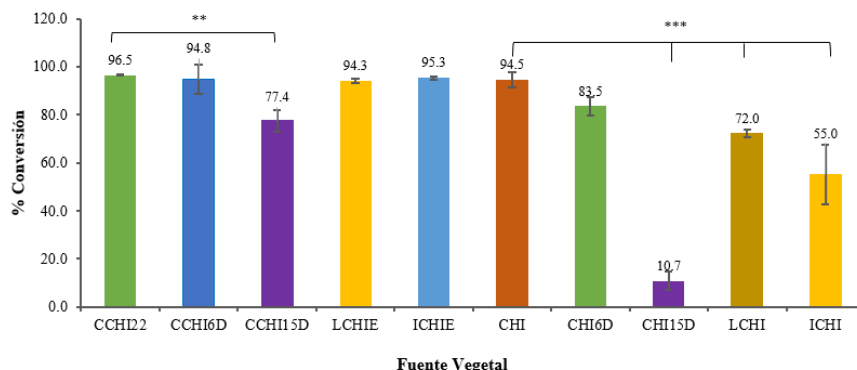
Se evaluó la actividad reductasa del extracto acuoso de semilla de chícharo después de 24 y 48 horas de reacción. A las 24h se obtuvo un 94.5 % y a las 48 horas 99.1 % de conversión. Con los resultados obtenidos se determinó, evaluar las reacciones a 24 h.

- ***Evaluación de la actividad reductasa del extracto acuoso, liofilizado e inmovilizados de semilla y vaina de chícharo***

En la **gráfica 1** se observa que el porcentaje de reducción de benzaldehído a alcohol bencílico con el extracto acuoso de la vaina de chícharo fue de 96.5 %, con el extracto después de 6 días en refrigeración fue de 94.8 %, sin embargo, el extracto acuoso después de 15 días en refrigeración el % de Conv disminuye un 19.1%. Por lo que el extracto acuoso de vaina de chícharo se puede conservar hasta 6 días en refrigeración sin pérdida significativa de su actividad catalítica. El liofilizado e inmovilizado del extracto acuoso de la vaina de chícharo tubo % de conversión de 94.3 y 95.3 % respectivamente, si diferencia significativa con el extracto acuoso.

El % Conv con el extracto acuoso de la semilla chícharo fue de 94.5, mientras que con el extracto acuoso después de 6 días en refrigeración se observa una disminución de 11.0% y a los 15 días se observa una disminución de significativa de la actividad reductasa de más del 80.0 %. Al liofilizar e inmovilizar el extracto acuoso de semilla de chícharo se observó una disminución en la conversión de 22.5 y 48.3%, respectivamente, con respecto al uso del extracto recién preparado. Por otro lado, al liofilizar e inmovilizar el extracto acuoso de semilla de chícharo se observó una disminución significativa del % de conv >39%. Al comparar los resultados de los extractos acuosos de semilla de chícharo (94.5 %) y la vaina

de chícharo (96.5 %), se observa que la vaina de chícharo tiene un mayor % de Conversión, es estable por más tiempo, además es un desecho al que se le puede dar un valor agregado.



Gráfica 1. Reducción de benzaldehído a alcohol bencílico usando los extractos acuosos de semilla de chícharo (CHI) y vaina de chícharo (CCHI) recién preparados, extractos acuosos de semilla de chícharo (CHI6D, CHI15D) y vaina de chícharo (CCHI6D, CCHI15D) almacenados en refrigeración a los 6 y 15 días respectivamente, liofilizado (LCHI) e inmovilizado (ICHI) de semilla de chícharo y liofilizado (LCHIE) e inmovilizado (ICHIE) de cascara de chícharo. ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$ diferencia estadísticamente significativa.

- **Evaluación de la actividad reductasa del extracto acuoso, liofilizados e inmovilizados de semilla de haba, mamey y vaina de haba**

En la **gráfica 2**, se observa que la reducción de benzaldehído es más alta con los extractos acuosos de semilla de haba con tegumento y haba sin tegumento con 99 y 93 % de reducción, respectivamente. El liofilizado e inmovilizado de haba sin tegumento (Haba ST) mantienen su actividad catalítica con 99 y 96 % de reducción, sin diferencia a lo obtenido para el extracto acuoso. Lo anterior es una ventaja ya que al liofilizar o inmovilizar el extracto acuoso se podrá conservar por más tiempo sin perder la eficacia de la enzima. Por otro lado, el liofilizado e inmovilizado de haba con tegumento (Haba CT) disminuyeron su actividad catalítica, con respecto al extracto acuoso, en un 52 y 7% respectivamente. El proceso de liofilización al extracto acuoso de Haba CT afecta drásticamente su actividad reductasa.

Los extractos acuosos de vaina de haba y semilla de mamey presentan bajos % de reducción con 8 y 31 %, respectivamente, al liofilizar el extracto acuoso de semilla de mamey aumento significativamente el % de conversión en un 34%. La inmovilización de las enzimas presentes en los extractos acuosos de vaina de haba y semilla de mamey provocó un aumento significativamente su actividad catalítica, con % de reducción de 45 y 93% respectivamente.

Al obtenerse tan bajos resultados con el extracto acuoso, inmovilizado y liofilizado de la vaina de haba, se realizó la reducción utilizando: 1) buffer de fosfatos (0.15 M, pH 8.1) como medio de reacción y una temperatura de 35°C, con estas condiciones se observó que el % de conversión aumento significativamente obteniéndose un 87% de reducción para los extractos acuosos y 95% en el caso del inmovilizado acetónico. Con estos resultados se corrobora que el proceso de inmovilización de enzimas logra aumentar su estabilidad y con ello su actividad catalítica, en este caso su actividad reductasa. Adicionalmente, se evaluó la actividad

reductasa del material vegetal liofilizado (Vaina seca) cabe destacar que este caso el material vegetal únicamente es lavado, liofilizado y triturado, con la finalidad de conservarse por un tiempo más largo, al evaluar el % de reducción sorprendentemente se obtuvo > 99% de alcohol bencílico.

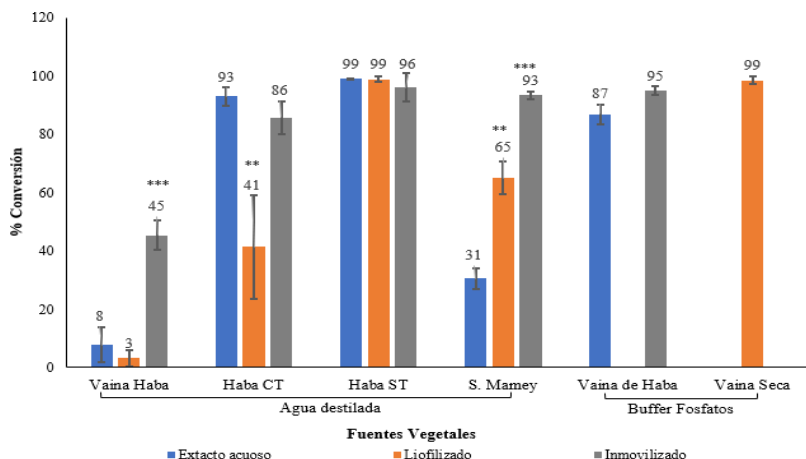


Gráfico 2. Reducción de benzaldehído a alcohol bencílico usando los extractos acuosos, liofilizados e inmovilizados de semilla de haba con tegumento (Haba CT), sin tegumento (Haba ST), mamey (S. Mamey), vaina de haba (Vaina haba) y vaina de haba seca (Material Vegetal Liofilizado), ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$ diferencia estadísticamente significativa.

CONCLUSIONES

Se comprobó la actividad reductasas de los extractos acuosos de vaina de chícharo, vaina de haba, semillas de chícharo, mamey y haba con y sin tegumento. El extracto acuoso del chícharo no se puede almacenar en refrigeración, ya que pierde su actividad reductasa, mientras que la vaina de chícharo se puede almacenar hasta por 6 días manteniendo su actividad catalítica. Inmovilizar los extractos acuosos de vaina de haba y semilla de mamey, aumenta significativamente la actividad reductasa con respecto al extracto acuoso. El extracto acuoso de vaina de chícharo, el inmovilizado de semilla de mamey y el liofilizado de vaina de haba son buenas fuente de biocatalizador ya que además de presentar buenos resultados son un desecho al que se le puede dar un valor agregado.

REFERENCIAS

- (1) Arroyo, M.; Acebal, C.; De la Mata, I. *Arbor*. **2014**, *190* (768), a156.
- (2) D. Gamemara; Seoane, A.; P. Saenz-Méndez; P. Domínguez de María. John Wiley & Sons. *Inc: Hoboken (USA)*, **2013**, 36.
- (3) Solís, A.; Martínez, R. M.; Cervantes, F.; Pérez, H. I.; Manjarrez, N.; Solís, M. *Acta Univ.* **2019**, *37* (2), 152–157.
- (4) Suárez-Franco, G.; Hernández-Quiroz, T.; Navarro-Ocaña, A.; Oliart-Ros, R. M.; Valerio-Alfaro, G. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **2010**, *15* (3), 441–445.
- (5) Chauhan, S.; Vohra, A.; Lakhanpal, A.; Gupta, R. *J. Food Process. Preserv.* **2015**, *39* (6), 2135–2141.
- (6) Yushkova, E. D.; Nazarova, E. A.; Matyuhina, A. V.; Noskova, A. O.; Shavronskaya, D. O.; Vinogradov, V. V.; Skvortsova, N. N.; Krivoshapkina, E. F. *J. Agric. Food Chem.* **2019**, *67* (42), 11553–11567.

Ejes Temáticos

Farmacología y Toxicología (FTX)

Carteles

EFECTOS DE FÁRMACOS SOBRE EL SISTEMA REPRODUCTIVO EN PECES: REVISIÓN SISTEMÁTICA

Illgner Ali Eddy Contreras Almazo^{*1}, *Clara Ortega Caramillo*², *Marcela Onofre Vergara*³, *Alejandra Contreras Ramos*⁴.

1. *Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana. Ciudad de México, México.*
2. *Unidad de Investigación Médica en Bioquímica Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI Instituto Mexicano del Seguro Social. Ciudad de México, México.*
3. *Departamento de Producción Agrícola y Animal Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Xochimilco. Ciudad de México, México.*
4. *Laboratorio de Biología del Desarrollo y Teratogénesis Experimental, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Ciudad de México, México.*

**Autor de correspondencia:*

Correo: (icontrerasalmazo@gmail.com)

Palabras clave: *Fármacos, peces, gónadas, folículos, atresia.*

INTRODUCCIÓN: Los productos farmacéuticos incluyen cientos de sustancias con propiedades físico-químicas complejas, dependiendo de sus actividades biológicas (Fent et al., 2006). A medida que la medicina mejora, se fabrican nuevos fármacos para tratamientos de enfermedades que aquejan a la humanidad. En consecuencia, la carga de productos farmacéuticos de cuidado personal (PPCP), principalmente los de uso frecuente y de venta libre siguen aumentando en las plantas de tratamiento de aguas residuales. Lo que representa un mayor riesgo de contaminantes emergentes y una amenaza para la biota acuática (Aus der Beek et al., 2016; Boxall et al., 2012; Ebele et al., 2017)

La farmacología proporciona información sobre la farmacocinética de los compuestos en el organismo, además, establece las rutas de absorción, distribución, metabolismo, degradación y los posibles efectos secundarios en el organismo diana. Sin embargo, la mezcla de fármacos presentes en el agua, representan una amenaza mayor para los organismos acuáticos, ya que podrían inducir alteraciones reproductivas en peces, comparado a lo ya reportado en humanos. Se sabe que la presencia de disruptores endocrinos derivados de hormonas sintéticas y naturales en el medio acuático, alteran el desarrollo de células germinales en peces, debido a cambios relevantes en la expresión de genes que regulan la proliferación, diferenciación y apoptosis celular (Galus, Jeyaranjaan, et al., 2013; Laville et al., 2004; Morley, 2009)

Los PPCP se pueden clasificar en múltiples grupos según sus propiedades, propósitos o actividad biológica, en las que incluyen antibióticos, hormonas, analgésicos, medicamentos antiinflamatorios, reguladores de lípidos, fármacos antagonistas y agonistas.

No obstante, dada la dificultad para detectar fármacos en el medio acuático, y bajo la premisa de que estos son diluidos en el agua, hasta el momento se ha prestado poca atención a este problema, a pesar de que los peces constituyen la base primordial de la alimentación (Morley, 2009).

OBJETIVO (S): Analizar de manera integral los efectos de compuestos farmacéuticos en la salud reproductiva de los peces. Con la finalidad de determinar las principales alteraciones reproductivas a nivel molecular, bioquímico e histológico en peces.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Protocolo de estudio

Se desarrolló un PECO (población, exposición, comparación, resultado) para abordar y comprender los posibles efectos que causan los compuestos farmacéuticos en el desarrollo reproductivo en peces (Tabla 1).

Tabla 1: PECO (población, exposición, comparación, resultado)

Población	Cualquier especie de pez sin restricciones de zona geográfica, distribución, sexo y ambiente.
Exposición	Exposición a cualquier compuesto farmacéutico: hormonas sintéticas, hormonas naturales; fármacos agonistas, fármacos antagonistas, antimicrobianos, entre otros.
Comparación	Un grupo de comparación expuesto a un nivel equivalente o ingredientes activos de las mismas formulaciones: modelo experimental, concentraciones, duración y vías de exposición.
Resultados	Cualquier efecto adverso para la salud reproductiva o criterios de valoración de oxidadad, que incluyen alteraciones en las gónadas.

Estrategia de búsqueda

Se emplearon las bases de datos Science Direct, Springer y Wiley, usando el enunciado booleano: (“follicular atresia” OR atresia) AND (follicle OR follicles OR “granulosa cell”) AND (“apoptosis OR “cell suicide” OR “cell death program”) AND (“gonads” OR “gonad” OR “ovary” OR “ovaries”) AND (“testicle” OR “testicles” OR “male gonad”) AND (“sperm” OR “spermatozoon”) AND (“fish” OR “fishes”) contenidas en el título del artículo, el resumen o las palabras clave, la búsqueda abarcó la última década (2010-2021).

Criterios de selección

Los artículos seleccionados cumplieron con los siguientes criterios: trabajos en peces (teleósteos) realizados en campo y laboratorio. Evaluación de los efectos de compuestos activos farmacéuticos sobre el desarrollo gonadal en peces. Alteraciones en los ovocitos y promoción de la actividad apoptótica dentro de las gónadas tanto femeninas como masculinas, influencias de las hormonas en el desarrollo folicular en peces. Estudios sobre expresión de genes que participan en el desarrollo gonadal y cualquier biomarcador relacionado con alteraciones reproductivas en los peces. Solo se consideraron las publicaciones escritas en idioma inglés.

Criterios de exclusión

Se descartaron todos los artículos duplicados, los que realizaron estudios en cualquier otro organismo diferente a peces, al igual que los libros, capítulos de libros, congresos, notas científicas y revisiones.

Evaluación de la elegibilidad del estudio

La elegibilidad de los artículos se analizó en el resumen, por dos revisores independientes. Tomando en cuenta los siguientes aspectos: (1) investigaciones empíricas originales publicadas en una revista científica; (2) evaluación simultánea de los efectos de compuestos farmacéuticos o componentes activos y (3) información sobre los niveles de expresión de genes que participan en el desarrollo de gónadas de peces.

Extracción de datos

La información de los artículos seleccionados se recopiló mediante un formulario, en donde se detalló: el año de publicación, propiedades de los compuestos activos, así como formulaciones, características metodológicas, concentración, vía de exposición, tiempo, modelos experimentales, nombre científico, criterio de valoración, respuesta del compuesto farmacéutico a nivel genético, histológico y fisiológico, diferencia en la toxicidad o mezclas del compuesto activo. Además, se realizó una síntesis cualitativa de los resultados.

Análisis de resultados

Los datos recopilados de los artículos se presentaron mediante tablas de evidencia o descriptivas. Los datos cuantitativos se expresaron en media, porcentajes y rangos según el caso.

RESULTADOS:

La búsqueda inicial en las bases de datos de Science Direct, Springer y Wiley arrojó doscientos cincuenta y cuatro artículos. Setenta y dos artículos fueron eliminados por no cumplir con criterios de inclusión (artículos de revisión y resúmenes de eventos científicos). A partir de ciento ochenta y dos artículos, se excluyeron ochenta artículos después de la lectura del resumen por los pares independientes, y ochenta artículos más por utilizar modelos experimentales diferentes a peces. ochenta artículos fueron descartados por no estar relacionados con la exposición de peces a fármacos. Se realizó la descripción de los efectos de fármacos en peces de los veintiún artículos seleccionados (Fig.1).

La localización de los artículos analizados fue predominantemente en revistas de Ciencias Ambientales (14%), Endocrinología (27%), Fisiología Animal (9%), Toxicología y Farmacología (50%).

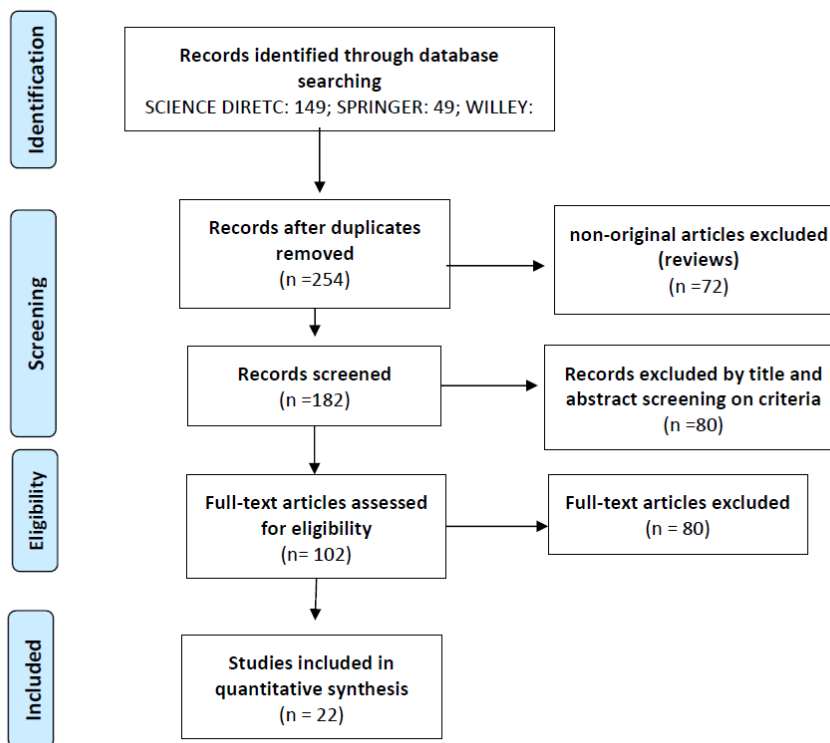


Fig. 1. Diagrama de flujo PRISMA.

Características generales de los estudios incluidos.

En la tabla 2, se muestran las características generales de los fármacos incluidos en los veintidós artículos. Entre el 2010-2012 se publicaron sólo tres artículos, uno por año, pero en el 2013 se reportaron tres artículos, y en 2014 dos artículos. Sin embargo, entre el 2015-2016 solo un artículo por año. Mientras que cinco artículos fueron identificados en el 2017. A pesar del repunte antes mencionado, no se publicaron artículos sobre el tema en el 2018, pero en el 2019 se realizaron cuatro publicaciones. Finalmente, entre 2020-2021 solo se reportaron dos artículos. El pez cebra *Danio rerio* fue la especie más utilizada (nueve artículos); mientras que en los demás artículos emplearon como modelo experimental especies de interés comercial y especies nativas de importancia ecológica y pesquera.

En los artículos analizados, se reportaron treinta y dos tipos de fármacos, clasificados por su actividad biológica, en hormonas naturales (Fakriadis et al., 2019; Fallah & Habibi, 2020; Hou et al., 2017; Irwin & van der Kraak, 2012; Peñaranda et al., 2013) y sintéticas (Colli-Dula et al., 2014; Cosme et al., 2015; Kaptaner & Ünal, 2011; Prado et al., 2014; Renaud et al., 2019; Shi et al., 2017; Villeneuve et al., 2017); fármacos agonistas (Fallah & Habibi, 2020; Irwin & van der Kraak, 2012), fármacos antagonistas ((Ahmadi et al., 2019; Breton et al., 2019; Cosme et al., 2015; (Eykelbosh & van der Kraak, 2010); Fallah & Habibi, 2020; Irwin & van der Kraak, 2012b), antimicrobianos (Orbea et al., 2017; Villeneuve et al., 2017), analgésico antipirético, reguladores de lípidos (Galus, Jeyaranjaan, et al., 2013(Galus, Kirischian, et al., 2013), entre otros (Figura 2B). Entre los productos farmacéuticos más estudiados destacan los hormonales naturales y sintéticos. De estos, el fármaco más utilizado fue la hormona 17 alfa etinil-estradiol (EE2).

Hormonas sintéticas: De los veintidós artículos revisados, siete centraron sus análisis en los efectos de hormonas sintéticas sobre la reproducción en hembras (Tabla 3) (Kaptaner y Ünal., 2010; Colli-Dula et al., 2014; Cosme et al., 2015; Renaud et al., 2019; Prado et al., 2014; Villeneuve et al., 2017; SHI et al., 2017). Cuatro artículos emplearon 17- α -ethinylestradiol (EE2) (Kaptaner y Ünal., 2010; Colli-Dula et al., 2014; Cosme et al., 2015; Renaud et al., 2019). El benzoato de estradiol (BE), trenbolone (TRB) y norgestrel (NGT) se reportaron en un artículo respectivamente. El tiempo de tratamiento fue variado desde 5 h hasta 60 días respectivamente. Los métodos de administración fueron en agua a concentraciones de 1 -100 ng/L (Kaptaner y Ünal., 2010; Cosme et al., 2015; Renaud et al., 2019) y en alimento a concentraciones de 0.2 y 70 ng/g de alimento (Colli-Dula et al., 2014). Entre las alteraciones más reportadas destacaron los cambios en la expresión génica en el ovario, ovocitos fibróticos, o con vitelogénesis alterada, folículos atrésicos o con alteración en la expresión de caspasa 3 y del igf. La pérdida de la fertilidad fue analizada en un artículo; mientras que el incremento de apoptosis en los embriones se analizó en dos artículos. Interesantemente, dos artículos señalaron la disminución de estrógenos (E2), testosterona (T) y vitelogenina (VTG) en plasma. Por lo que respecta al hígado, los reportes de tres artículos revelaron cambios en la expresión de algunos genes y proteínas como la vitelogenina y caspasa 3.

Hormonas naturales: Dos estudios independientes analizaron el efecto de la hormona de crecimiento de carpa (HCG), la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), el resto de los trabajos solo abordó por única ocasión a la Progesterona (P4) y el extracto de pituitaria de carpa en la hembra. El tiempo de tratamiento fue muy variado desde 3h hasta 84 días, igual que las concentraciones usadas. Mientras que la información obtenida se basó principalmente en el

análisis de los folículos. Marcadores apoptóticos como caspasa 3 fueron inhibidos en hembras tratadas con HCG.

Fármacos agonistas: En este grupo se analizó el efecto del péptido activador de adenilato ciclasa pituitaria (PACAP) y la Forskolina en un artículo y en otro, se reportó un agonista de GnRH (GnRHa). Notablemente, en los folículos la Forskolina inhibió la expresión de marcadores de proliferación y apoptosis *igf2a* y *igf2b* y *casp3* (Irwin & Van Der Kraak., 2012), pero la expresión de *igf3* incremento en hembras tratadas con PACAP y Forskolina. En *S. dumerili* las concentraciones de GnRHa fueron de 20 000 - 25 000 ng/kg vía inyección y 49 000 - 69 000 ng/kg por implante durante 21 días. Por otro parte, GnRHa aceleró la maduración gonadal, y disminuyó la atresia folicular ovárica en *S. dumerili* (Fakriadis et al., 2019).

Fármacos antagonistas: Basados en la afinidad por el receptor e inhibición de la acción de los agonista, se agruparon al inhibidor del receptor del factor de crecimiento 1 similar a insulina (IGFIR), inhibidor de la proteína cinasa A (PKA H-89), inhibidor de hormona gonadotropina (GnIH), inhibidor de tirosina quinasa Imatinib mesylat (IM), inhibidor de fosfolipasa A2 quinacrina (QUIN), inhibidor de la aromatasa Exemestano (EXN) e inhibidor de catepsina B, todos reportados de forma independiente. *D. rerio* fue el organismo más estudiado. En estudios *in vitro* se emplearon de 10 - 25 000 nM; *in vivo* de 10 - 100 000 ng/L, y vía oral a 1 000 ng/gr de alimento, los intervalos de tiempo fluctuaron desde 10 min hasta 30 días respectivamente. Entre los cambios más reportados destacan los ovocitos inmaduros en hembras tratadas con IM y EXM. Aumento de tamaño folicular por la exposición a QUIN e IM (cita). Los marcadores de apoptosis como *casp3* decayeron en presencia de CA-074-ME y GnIH (citas), pero incrementaron cuando se empleó NVP-AEW541, además la diferenciación de los folículos se redujo (*igf3*) en hembras tratadas con PKA H-89. Finalmente, bajos niveles hormonales de 17a, 20b-DHP en plasma fueron determinados en hembras tratadas con QUIN y NVP-AEW51.

Antimicrobianos: El Triclocarban (TCC), a 5 000 y 10 000 ng/L fue evaluado en *P. promelas* durante 22 días. Fue notable una reducción significativa de la fecundidad y baja producción de huevos, debido al aumento de folículos atrésicos preovulatorios. Además, incrementó la expresión de marcadores de vitelogénesis como *vtgr*, *er*, *3bhsd* y *star*. Pero decayó la expresión del mensajero de *fshr* (Villeneuve et al., 2017).

Tabla 2. Características generales de los fármacos que generan alteraciones endocrinas afectando la salud reproductiva de peces.

Referencia	Tipo de estudios	Especie	Fármaco	Fórmula química	Actividad Biológica	Clasificación por su uso
Eykelbosh & Van Der Kraak, 2010	<i>In vitro</i>	<i>Danio rerio</i> (Folículos)	Inhibidor de Catepsina B, (CA-074-ME)	C ₁₉ H ₃₁ N ₆ O ₆	Bloquea la síntesis de proteínas	Fármaco antagonista
Kaptaner & Ünal., 2011	<i>In vivo</i>	<i>Chalcalburnus tarich</i>	17α-Etiniil-Estradiol	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	Hormona sexual sintética	Hormonal
Irwin & Glen Van	<i>In vitro</i>	<i>Danio rerio</i>	IGF1 humana recombinante (rhIGF1)	C ₃ H ₇ NO ₃	Hormona promotora de desarrollo folicular	Hormonal

Der Kraak,
2012

			Gonadotropina coriónica Humana (hCG))	$C_{1105}H_{1770}N_{318}O_{336}S_{26}$	Hormona hipofisaria	Hormonal
			Inhibidor IGF1R (NVP-AEW541)	$C_{27}H_{29}N_5O$	Inhibidor de expresión génica	Fármaco antagonista
			Inhibidor de PKA (H89)	$C_{20}H_{20}BrN_3O_2S_2HCl$	Inhibidor de la proteína cinasa A	Fármaco antagonista
			Hormona liberadora de gonadotropina de salmon (sGnRH)	$C_{64}H_{83}N_{17}O_{12}$	Hormona hipotalámica precursora de LH y FSH	Hormonal
			Hormona de crecimiento de carpa (cGH)	$C_{41}H_{56}FN_7O_6S_2$	Hormona proteica secretada por la adenohipofisis	Hormonal
			Labdano diterpeno (Forskolina)	$C_{22}H_{34}O_7$	Eleva los niveles del adenosín monofosfato cíclico (AMPc)	Fármaco agonista
			Péptido activador de la adenilato ciclasa pituitaria humana (PACAP)	$C_{203}H_{331}N_{63}O_{53}S$	Activador del adenilato ciclasa 1	Fármaco agonista
			Acetaminofen (ACE)	$C_8H_9NO_2$	Bloquea la acción de la ciclooxigenasas	Analgésico y antipirético
			Venlafaxina (VEN)	$C_{17}H_{27}NO_2$	Antidepresivo	Antidepresivo
Galus, et al 2013	In vivo	<i>Danio rerio</i> (Embriones/adultos)	Genfibrozil (GEM)	$C_{15}H_{22}O_3$	Reguladores de lípidos	Regulador de lípidos
			Carbamazepin (CBZ)	$C_{15}H_{12}N_2O$	Anticonvulsivo y estabilizador del estado de ánimo	Anticonvulsivo
Galus, et al 2013,	In situ	<i>Danio rerio</i>	ACE, VEN, CBZ y GEM	-	-	-
Peñaranda, et al. 2013	In vivo	<i>Anguilla anguilla</i>	Inyecciones de extracto de pituitaria de carpa	$C_{64}H_{83}N_{17}O_{12}$	Hormona inductora de reproducción en peces	Hormonal
Chishti et al 2013	in vivo	<i>Pimephales promelas</i>	Progesterona (P4)	$C_{21}H_{30}O_2$	Hormona sexual	Hormonal
Prado et al., 2014	in situ	<i>Astyanax fasciatus</i>	Benzoato de estradiol (OB)	$C_{25}H_{28}O_3$	Hormona sintética derivada del 17 β -Estradio	Hormona sintética
Colli-Dula et al ,2014	in vivo	<i>Micropterus salmoides</i>	17 α -Etilin-Estradiol	$C_{20}H_{24}O_2$	Hormona sintética	Hormona sintética
Cosme et al 2015	In vivo	<i>Danio rerio</i>	17 α -Etilin-Estradiol	$C_{20}H_{24}O_2$	-	Hormona sintética

			Inhibidor de fosfolipasa A2 quinacrina (QUIN)	$C_{23}H_{30}ClN_3O$	Anti protozoario, Inhibidor de la histamina N - metiltransferasa.	Fármaco antagonista
Cavallin et al., 2016	In situ	<i>Pimephales promelas</i>	Mezclas químicas de compuestos provenientes de PTAR		-	
Orbea et al., 2017	In vivo	<i>Danio rerio</i> (embriones)	Nanopartículas de plata	Ag	Agentes antimicrobianos y antivirales	Antimicrobianos
Villeneuve et al., 2017	In vivo	<i>Pimephales promelas</i>	Triclocarban (TCC), 17b-Trenbolone (TBR)	$C_{13}H_9Cl_3N_2O$ $C_{18}H_{22}O_2$	Antibacteriano y antiséptico Hormona esteroide anabólico androgénico	Antibacteriano y antiséptico Hormona
Hou et al 2017	In vivo	<i>Gambusia affinis</i>	Progesterona (P4) Estrona (E1)	$C_{21}H_{30}O_2$ $C_{18}H_{22}O_2$	Hormona involucrada en el ciclo menstrual Hormona estrogénica secretada por el ovario y tejido adiposo	Hormona esteroide Hormona sexual
Weber et al., 2017	In situ	<i>Astyanax rivularis</i>	Estradiol (E2) Estriol (E3)	$C_{18}H_{24}O_2$ $C_{18}H_{24}O_3$	Hormona esteroidea sexual femenina Hormona Sexual Metabolito del estradiol.	Hormona natural sexual femenina Hormona natural sexual femenina
Shi et al 2017	In vivo	<i>Danio rerio</i>	Norgestrel	$C_{21}H_{28}O_2$	Anticonceptivo a base de progesterona	Hormona natural sexual femenina
Fakriadis et al., 2019	In vivo	<i>Seriola dumerili</i>	GnRHa (Des-Gly10, DALa6-Pro-NEth9-mGnRHa, H-4070)	$C_{60}H_{73}N_{15}O_{13}$	Impide la síntesis de FSH y LH en la hipófisis.	Agonistas de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH)
Breton, 2019	In vivo	<i>Centropristis striata</i>	Exemestano	$C_{20}H_{24}O_2$	Inhibidor de aromatasa.	Fármaco antagonista
Renaud et al 2019	In vivo	<i>Sardinops sagax</i> y <i>Scomber japonicus</i>	17 α -Ethinil-Estradiol	$C_{20}H_{24}O_2$	Hormona estrogénica sintética	Hormona sintética
Ahmadi et al 2019	In vivo	<i>Danio rerio</i>	Imatinib mesylat	$C_{30}H_{35}N_7O_4S$	Inhibición específica de la enzima tirosina cinasa.	Fármaco antagonista
Fallah & Habibi. 2020	In vitro (Foliculos)	<i>Danio rerio</i>	Gonadotropina coriónica Humana (hCG)	$C_{1105}H_{1770}N_{318}O_{336}S_{26}$ (HCG)	Hormona hipofisaria	Hormona natural sexual
Nibamurek e, &	In vivo	<i>Oreochromis mossambicus</i>	Nevirapina	$C_{15}H_{14}N_4O$	Inhibidor de la transcriptasa reversa	Fármaco antagonista

Wagenaar,
2021

Sulfametoxazol	$C_{10}H_{11}N_3O_3S$	Bloquea el paso sucesivos del metabolismo del folato en las bacterias	Antibiótico
Timetoprima	$C_{14}H_{18}N_4O_3$	Impide la reducción del dihidrofolato a tetrahidrofolato en las bacterias	Antibiótico

CONCLUSIONES:

Con base en los resultados de los artículos revisados, se concluye que existe una relación positiva entre la exposición a hormonas sintéticas, principalmente EE2 y la disminución de la fertilidad. Entre las alteraciones observadas destacan el cambio de sexo y las alteraciones en el desarrollo gonadal, así como incremento en la tasa de apoptosis y atresia folicular. También se evidencian alteraciones endocrinas causadas por fármacos antagonistas como EXN, QUINN y IM. Lo que destaca que el vertimiento de aguas residuales a los ambientes acuáticos constituye una amenaza directa para las especies que la habitan. Por lo que es fundamental evitar el uso excesivo de fármacos, para prevenir la contaminación de los ambientes acuáticos.

BIBLIOGRAFÍA:

- Ahmadi, N., Samaee, S. M., Yokel, R. A., & Tehrani, A. (2019). Imatinib mesylate effects on zebrafish reproductive success: Gonadal development, gamete quality, fertility, embryo-larvae viability and development, and related genes. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 379. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2019.114645>
- Aus der Beek, T., Weber, F. A., Bergmann, A., Hickmann, S., Ebert, I., Hein, A., & Küster, A. (2016). Pharmaceuticals in the environment-Global occurrences and perspectives. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35(4), 823–835. <https://doi.org/10.1002/etc.3339>
- Boxall, A. B. A., Rudd, M. A., Brooks, B. W., Caldwell, D. J., Choi, K., Hickmann, S., Innes, E., Ostapyk, K., Staveley, J. P., Verslycke, T., Ankley, G. T., Beazley, K. F., Belanger, S. E., Berninger, J. P., Carriquiriborde, P., Coors, A., DeLeo, P. C., Dyer, S. D., Ericson, J. F., ... van der Kraak, G. (2012). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: What are the big questions? *Environmental Health Perspectives*, 120(9), 1221–1229. <https://doi.org/10.1289/ehp.1104477>
- Breton, T. S., Kenter, L. W., Greenlaw, K., Montgomery, J., Goetz, G. W., Berlinsky, D. L., & Luckenbach, J. A. (2019). Initiation of sex change and gonadal gene expression in black sea bass (*Centropristis striata*) exposed to exemestane, an aromatase inhibitor. *Comparative Biochemistry and Physiology -Part A : Molecular and Integrative Physiology*, 228, 51–61. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2018.10.024>
- Cavallin, J. E., Jensen, K. M., Kahl, M. D., Villeneuve, D. L., Lee, K. E., Schroeder, A. L., Mayasich, J., Eid, E. P., Nelson, K. R., Milsk, R. Y., Blackwell, B. R., Berninger, J. P., Lalone, C. A., Blanksma, C., Jicha, T., Elonen, C., Johnson, R., & Ankley, G. T. (2016). Pathway-based approaches for assessment of real-time exposure to an estrogenic wastewater treatment plant effluent on fathead minnow reproduction. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35(3), 702–716. <https://doi.org/10.1002/etc.3228>
- Colli-Dula, R. C., Martyniuk, C. J., Kroll, K. J., Prucha, M. S., Kozuch, M., Barber, D. S., & Denslow, N. D. (2014). Dietary exposure of 17-alpha ethinylestradiol modulates physiological

- endpoints and gene signaling pathways in female largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquatic Toxicology*, 156, 148–160. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.08.008>
7. Cosme, M. M., Lister, A. L., & van der Kraak, G. (2015). Inhibition of spawning in zebrafish (*Danio rerio*): Adverse outcome pathways of quinacrine and ethinylestradiol. *General and Comparative Endocrinology*, 219, 89–101. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2015.01.013>
 8. Ebele, A. J., Abou-Elwafa Abdallah, M., & Harrad, S. (2017). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. *Emerging Contaminants*, 3(1), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2016.12.004>
 9. Eykelbosh, A. J., & van der Kraak, G. (2010). A role for the lysosomal protease cathepsin B in zebrafish follicular apoptosis. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 156(2), 218–223. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.02.005>
 10. Fakriadis, I., Lisi, F., Sigelaki, I., Papadaki, M., & Mylonas, C. C. (2019). Spawning kinetics and egg/larval quality of greater amberjack (*Seriola dumerili*) in response to multiple GnRH α injections or implants. *General and Comparative Endocrinology*, 279, 78–87. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.12.007>
 11. Fallah, H. P., & Habibi, H. R. (2020). Role of GnRH and GnIH in paracrine/autocrine control of final oocyte maturation. *General and Comparative Endocrinology*, 299. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2020.113619>
 12. Galus, M., Jeyaranjan, J., Smith, E., Li, H., Metcalfe, C., & Wilson, J. Y. (2013). Chronic effects of exposure to a pharmaceutical mixture and municipal wastewater in zebrafish. *Aquatic Toxicology*, 132–133, 212–222. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.12.016>
 13. Galus, M., Kirischian, N., Higgins, S., Purdy, J., Chow, J., Ranganarajan, S., Li, H., Metcalfe, C., & Wilson, J. Y. (2013). Chronic, low concentration exposure to pharmaceuticals impacts multiple organ systems in zebrafish. *Aquatic Toxicology*, 132–133, 200–211. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.12.021>
 14. Hou, L., Xu, H., Ying, G., Yang, Y., Shu, H., Zhao, J., & Cheng, X. (2017). Physiological responses and gene expression changes in the western mosquitofish (*Gambusia affinis*) exposed to progesterone at environmentally relevant concentrations. *Aquatic Toxicology*, 192, 69–77. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.09.011>
 15. Irwin, D. A., & van der Kraak, G. (2012). Regulation and actions of insulin-like growth factors in the ovary of zebrafish (*Danio rerio*). *General and Comparative Endocrinology*, 177(1), 187–194. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2012.03.006>
 16. Kaptaner, B., & Ünal, G. (2011). Effects of 17 α -ethynylestradiol and nonylphenol on liver and gonadal apoptosis and histopathology in *Chalcalburnus tarichi*. *Environmental Toxicology*, 26(6), 610–622. <https://doi.org/10.1002/tox.20585>
 17. Laville, N., Aït-Àssa, S., Gomez, E., Casellas, C., & Porcher, J. M. (2004). Effects of human pharmaceuticals on cytotoxicity, EROD activity and ROS production in fish hepatocytes. *Toxicology*, 196(1–2), 41–55. <https://doi.org/10.1016/J.TOX.2003.11.002>
 18. Morley, N. J. (2009). Environmental risk and toxicology of human and veterinary waste pharmaceutical exposure to wild aquatic host-parasite relationships. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 27(2), 161–175. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2008.11.004>
 19. Orbea, A., González-Soto, N., Lacave, J. M., Barrio, I., & Cajaraville, M. P. (2017). Developmental and reproductive toxicity of PVP/PEI-coated silver nanoparticles to zebrafish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology*, 199, 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2017.03.004>
 20. Peñaranda, D. S., Mazzeo, I., Hildahl, J., Gallego, V., Nourizadeh-Lillabadi, R., Pérez, L., Asturiano, J. F., & Weltzien, F. A. (2013). Molecular characterization of three GnRH receptor paralogs in the European eel, *Anguilla anguilla*: Tissue-distribution and changes in transcript abundance during artificially induced sexual development. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 369(1–2), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2013.01.025>

21. Prado, P. S., Pinheiro, A. P. B., Bazzoli, N., & Rizzo, E. (2014). Reproductive biomarkers responses induced by xenoestrogens in the characid fish *Astyanax fasciatus* inhabiting a South American reservoir: An integrated field and laboratory approach. *Environmental Research*, 131, 165–173. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.03.002>
22. Renaud, L., Agarwal, N., Richards, D. J., Falcinelli, S., Hazard, E. S., Carnevali, O., Hyde, J., & Hardiman, G. (2019). Transcriptomic analysis of short-term 17 α -ethynylestradiol exposure in two Californian sentinel fish species sardine (*Sardinops sagax*) and mackerel (*Scomber japonicus*). *Environmental Pollution*, 244, 926–937. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.058>
23. Shi, W. J., Zhao, J. L., Jiang, Y. X., Huang, G. Y., Liu, Y. S., Zhang, J. N., & Ying, G. G. (2017). Transcriptional and histological alterations in gonad of adult zebrafish after exposure to the synthetic progestin norgestrel. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36(12), 3267–3276. <https://doi.org/10.1002/etc.3894>
24. Villeneuve, D. L., Jensen, K. M., Cavallin, J. E., Durhan, E. J., Garcia-Reyero, N., Kahl, M. D., Leino, R. L., Makynen, E. A., Wehmas, L. C., Perkins, E. J., & Ankley, G. T. (2017). Effects of the antimicrobial contaminant triclocarban, and co-exposure with the androgen 17 β -trenbolone, on reproductive function and ovarian transcriptome of the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36(1), 231–242. <https://doi.org/10.1002/etc.3531>

Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto metanólico de *Eysenhardtia platycarpa* en ratones CD-1

De la Cruz, B.[†]; Durán, D.[†]; González, A.[†]; Limón, C. J.[†]; Modesto, S.[†]; Pérez, N.[†]

[†]Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica.

*Autor de correspondencia: Nimsi Campos Xolalpa.

*Departamento de Sistemas Biológicos.

Correo: (ncampos@correo.xoc.uam.mx)

Palabras clave: COX, AINES, flavonoide.

1. Introducción:

La inflamación es un proceso fisiológico y defensivo del organismo ante agentes endógenos del organismo o agresiones del medio, que ocasiona signos como dolor, calor, rubor, edema, y tumefacción. La inflamación aguda se caracteriza por presentarse por periodos de tiempo cortos, sin embargo, cuando esta se mantiene por largos periodos su intensidad aumenta y en algunos casos existe pérdida de funcionalidad en la zona donde se presenta, además de promover el daño de células, tejidos y órganos (1).

Existen diferentes fármacos utilizados para el tratamiento de la inflamación como los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) y los esteroideos. Los AINES son utilizados para el tratamiento de algunas enfermedades crónicas (artritis reumatoide y lupus) o padecimientos de menor gravedad como la fiebre (2). Esta clase de fármacos disminuyen la concentración de prostaglandinas al inhibir la acción de ciclooxigenasa 2 (COX-2). Algunos principios activos utilizados para el tratamiento de dichas patologías son: ácido acetilsalicílico, ibuprofeno, naproxeno e indometacina, esta última es utilizada en padecimientos como la espondilitis anquilosante, la osteoartritis y dolores agudos principalmente de hombro (3). A pesar de sus múltiples usos, los AINES que carecen de especificidad pueden interactuar con COX-1, que está involucrado en la actividad constitutiva del organismo, causando efectos secundarios como problemas cardiovasculares, lesiones renales, hepatotoxicidad y úlceras gástricas (2); por este motivo se han buscado alternativas con la misma eficacia y menor

riesgo. La combinación de estudios fitoquímicos y farmacológicos han permitido integrar metabolitos secundarios aislados de plantas como una opción al tratamiento de enfermedades inflamatorias (4).

México es un país que se caracteriza por su riqueza en flora, fauna y donde culturalmente se practica la medicina tradicional basada en plantas, por lo que su protección, reconocimiento y estudio resultan de suma importancia para su conservación (5). Las formas en las que las plantas se administran son en pasta, maceradas, en cocimiento o en tés y algunas de las plantas que son utilizadas como tratamiento son: bugambilia (*Bougainvillea*), hierba santa (*Piper auritum*), o palo azul (*Eysenhardtia platycarpa*) a esta última se le han atribuido propiedades antiinflamatorias (6).

Eysenhardtia platycarpa es utilizada como antidiurético, antirreumático o antioxidante (7). Sin embargo, también se han reportado estudios científicos en donde se observa su actividad hipoglucemiante (8), así como antiinflamatoria (9), debido a que posee moléculas como flavonoides, quinonas, taninos y saponinas en su constitución.

En la actualidad la medicina tradicional ha tomado terreno y se ha expandido en diferentes países, sin embargo, afronta problemas de seguridad, eficacia, disponibilidad y reglamentación, por lo que su comparación ante tratamientos ya establecidos resulta importante para determinar si realmente son una alternativa (5). El presente trabajo pretende analizar los efectos de *E. platycarpa* sobre el proceso inflamatorio agudo inducido en ratones CD-1 provenientes del bioterio de la UAM unidad Xochimilco.

2. Objetivos:

2.1. General: Evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto metanólico de *E. platycarpa* en ratones CD-1 con inflamación aguda inducida por aceite de croton.

2.2. Específicos:

- Comparar el efecto antiinflamatorio del extracto de *E. platycarpa* respecto a la indometacina.

3. Materiales y métodos:

3.1. Material vegetal

Las hojas secas de *E. Platycarpa* fueron compradas en el “Mercado Sonora”, ubicado en la colonia Merced Balbuena, delegación Venustiano Carranza, C.P 15800, CDMX.

La extracción se realizó por maceración; las hojas fueron trituradas hasta obtener un polvo fino (8, 10). A continuación, en un frasco se añadieron 20 g del polvo y 100 mL de metanol; el frasco permaneció cerrado y en un lugar sin acceso a la luz durante 3 días (11, 12).

Posteriormente la solución fue filtrada y concentrada a presión reducida en rotavapor, posteriormente se llevó a baño maría hasta evaporar el disolvente remanente. Se obtuvo 1.230 g de extracto con consistencia densa y viscosa (rendimiento de extracción de 6.15%).

3.2. Animales de experimentación

Se utilizaron 18 ratones macho de la cepa CD-1, provenientes del bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, los cuales tenían una edad aproximada de 4 semanas y un peso promedio de 25.73 ± 1.13 g. El procedimiento hecho en esta investigación se realizó y adecuó, para proporcionar el menor dolor y estrés posible a los ratones, de acuerdo con la NOM-062-ZOO y con el protocolo aprobado de docencia número 184.

3.3. Ensayo de actividad antiinflamatoria aguda

Para llevar a cabo la evaluación del extracto, se utilizó el modelo de un solo edema auricular. Se formaron 3 grupos de 6 ratones cada uno: grupo positivo, grupo prueba y grupo negativo.

Todos los grupos fueron administrados con 20 μ L de aceite de croton (2.5 μ g/ μ L) en la oreja derecha por vía tópica, procurando que la administración fuera uniforme en la parte posterior y anterior de la oreja. Pasados 30 minutos, se les administró 20 μ L de sus respectivos tratamientos en la misma oreja que el aceite de croton, tal como se muestra en la Tabla 1:

Tabla 1. Grupos designados y sus respectivos tratamientos.

Positivo	Prueba	Negativo
Indometacina (0.1 mg/ μ L)	Extracto de <i>E. platycarpa</i> (0.1 mg/ μ L)	Acetona

Después de 4 horas, los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical, para posteriormente perforar ambas orejas por la parte central, obteniendo cortes de 6 mm de diámetro, los cuales se pesaron y registraron.

3.4. Procesamiento de datos y análisis estadístico

Se obtuvo la diferencia de pesos entre los cortes de las orejas izquierda y derecha de cada ratón de acuerdo a la Ecuación 1, con este dato y tomando como referencia al grupo administrado con acetona se obtuvo el porcentaje de inhibición de acuerdo a la Ecuación 2.

Ecuación 1 y 2. Ecuaciones para obtener la diferencia de peso y porcentaje de inhibición.

$$(1) DP = Oi - Od \quad \%Inhibición = \frac{DP \text{ negativo} - DP \text{ tratado}}{DP \text{ negativo}} \times 100 \quad (2)$$

DP = Diferencia de peso Oi = Peso de la oreja izquierda Od = Peso de la oreja derecha

Los resultados se expresan como la media de cada grupo \pm el error estándar (SE). El análisis estadístico se llevó a cabo en el programa JMP 16, se realizó un ANOVA y la prueba post hoc de Tukey con la diferencia de peso en las orejas de los ratones por grupo. Se consideraron estadísticamente significativos los valores $p < 0.05$.

4. Resultados:

En la Tabla 2. se puede observar la diferencia en el peso de las orejas izquierda y derecha de cada grupo. Todos los grupos fueron significativamente diferentes entre sí ($p < 0.05$), esto señala que tanto la indometacina como el extracto de *E. platycarpa*, a dosis de 2 mg/oreja, disminuyen el edema auricular inducido con aceite de croton en ratones; así mismo el efecto terapéutico de cada uno fue diferente, siendo la indometacina quien presenta mayor porcentaje de inhibición (79.31 %), mientras que el extracto de *E. platycarpa* presenta menor actividad (47.12 %).

Tabla 2. Diferencia de peso y porcentaje de inhibición de cada grupo.

Grupos	Diferencia de peso (mg)	Porcentaje de inhibición (%)
Negativo	1.45 \pm 0.10	0.00 \pm 6.83
Indometacina	0.30 \pm 0.07	79.31 \pm 4.87
Extracto	0.76 \pm 0.09	47.12 \pm 6.58

Se muestra la $\bar{x} \pm SE$ de cada grupo, el tamaño del grupo Negativo y Extracto fue de 6. Debido a un error en el procedimiento, para el grupo Indometacina solo se consideraron los resultados obtenidos de 5 ratones.

5. Discusión:

E. Platycarpa posee actividad antiinflamatoria, aunque en menor medida que la indometacina por aproximadamente 32.19%; el porcentaje de inhibición obtenido en este trabajo es menor que el encontrado por Bustos-Salgado y colaboradores (10), esto podría deberse a la falta de pruebas de identificación en el material vegetal, evaluando una planta de la misma familia pero diferente a *E. Platycarpa*; otro posible factor que influyó en el porcentaje de inhibición es que en su dicho se aisló una sola flavonona de las 5 presentes en el extracto.

Por otro lado, el porcentaje de inhibición obtenido de la indometacina es similar al obtenido por Campos-Xolalpa (13) y colaboradores, así como al de Bustos-Salgado y colaboradores (10), con los que se sustenta aún más el uso de indometacina como fármaco de referencia en futuros estudios.

El hecho de que el extracto de *E. Platycarpa* presente menor actividad antiinflamatoria que la indometacina, no significa que deba dejar de usarse como alternativa al tratamiento de la inflamación, pues como Lozoya menciona (14), la medicina tradicional mexicana es ampliamente utilizada aún en la actualidad y provee una alternativa a la terapia médica convencional.

De acuerdo a la literatura, proponemos que el mecanismo por el que las flavononas presentes en el extracto de *E. Platycarpa* actúan y disminuyen la respuesta inflamatoria es debido a la interacción con el complejo enzimático “ciclooxigenasa”, involucrado en la síntesis de prostaglandinas y otros mediadores (15).

Por último, las flavononas presentes en *E. platycarpa* pueden ser útiles como compuestos líderes para la síntesis de moléculas antiinflamatorias, tal como Bustos-Salgado y colaboradores (10) comprobaron en su estudio, obteniendo moléculas a partir de las contenidas en el extracto de *E. platycarpa* que incluso presentaron mayor actividad antiinflamatoria a la indometacina.

6. Conclusiones:

El extracto metanólico de *E. platycarpa*, conocida como “palo azul”, presenta propiedades antiinflamatorias cuando se administra tópicamente en ratones CD-1 con inflamación aguda inducida por aceite de croton. Su eficacia fue comparada con la actividad antiinflamatoria de la indometacina, el cual es lo suficientemente confiable para ser utilizado como fármaco de referencia. Podemos concluir que hay diferencias significativas entre los tratamientos de indometacina y el extracto de *E. platycarpa*, presentando éste último menor actividad que la indometacina.

Bibliografía:

1. Winyard, P; Willoughby, D. Inflammation Protocols. EUA: Humana Totowa; **2003**.
2. Oscanoa-Espinoza, TJ. Seguridad de los antiinflamatorios no esteroideos. *Rev Med Inst Mex Seg Soc*; **2015**; 53(2): pp. 172-179. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=457744936012>.
3. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 3715: Indomethacin. **15 de septiembre de 2022**. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Indomethacin>.
4. Garcia-Campoy, A; Garcia, E; Muñoz-Ramirez, A. Phytochemical and Pharmacological Study of the Eysenhardtia Genus. *Plants*; **2020**; 9(9): pp. 11-24. <https://doi.org/10.3390/plants9091124>.
5. Jiménez-Silva, A. Medicina tradicional. *Bo. CONAMED-OPS*; **2017**; 12: pp. 31-34.

6. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Plantas medicinales de México. **6 de septiembre de 2022.** Disponible en: <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/plantas-medicinales-de-mexico?idiom=es>
7. Vázquez, C; Batis, A; Alcocer, M; Gual, M; Sánchez, C. Árboles y arbustos nativos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. México: CONABIO; **2021.**
8. Narváez-Mastache, J; Garduño-Ramírez, M; Álvarez, L; Delgado, G. Antihyperglycemic Activity and Chemical Constituents of *Eysenhardtia platycarpa*. *J. Nat. Prod*; **2006**; 69(12): pp. 1687–1691. <https://doi.org/10.1021/np060166z>
9. Hui, L; Xiao-Dan, L; Guo-En, W; Yi-Fang, L; Hiroshi, K; Rong-Rong, H. Anti-inflammatory effects of anthocyanins-rich extract from bilberry (*Vaccinium myrtillus L.*) on croton oil-induced ear edema and *Propionibacterium acnes* plus LPS-induced liver damage in mice. *Int. J. Food Sci. Nutr*; **2014**; 65(5): pp. 594-601. <https://doi.org/10.3109/09637486.2014.886184>.
10. Bustos-Salgado, P; Rodríguez-Lagunas, M; Domínguez-Villegas, V; Andrade -Carrera, B; Calpena-Campmany, A; Garduño-Ramírez, M. *Ex Vivo* and *In Vivo* Anti-inflammatory Evaluations of Modulated Flavanones Solutions. *Proceedings*; **2021**; 78(23): pp. 23-23. <https://doi.org/10.3390/IECP2020-08657>.
11. Domínguez-Villegas, V; Domínguez-Villegas, V; García, ML; Calpena, A; Clares-Naveros, B; Garduño-Ramírez, ML. Anti-inflammatory, Antioxidant and Cytotoxicity Activities of Methanolic Extract and Prenylated Flavanones Isolated from Leaves of *Eysenhardtia platycarpa*. *Nat. Prod. Commun*; **2013**; 8(2): pp. 177-180. <https://doi.org/10.1177/1934578X1300800211>.
12. Bustos-Salgado, P; Andrade-Carrera, B; Domínguez-Villegas, V; Díaz-Garrido, N; Rodríguez-Lagunas, MJ; Badía, J; Balmori, L; Mallandrich, M; Calpena-Campmany, A; Garduño-Ramírez, ML. Screening Anti-Inflammatory Effects of Flavanones Solutions. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**; 22(16): pp. 78-88. <https://doi.org/10.3390/ijms22168878>.
13. Campos-Xolalpa, N; Esquivel-Campos, AL; Martínez-Casares, RM; Pérez-Gutiérrez, S; Pérez-Ramos, J; Sánchez-Mendoza, E. Anti-Inflammatory Activity of Piquerol Isolated from *Piqueria trinervia* Cav. *Pharmaceuticals (Basel)*; **2022**; 15(7): 771. <https://doi.org/10.3390/ph15070771>.
14. Lozoya, X. Plantas, medicina y poder: breve historia de la herbolaria mexicana. México: Editorial Pax México; **1997.**
15. Maleki, SJ; Crespo, JF; Cabanillas, B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chem.* **2019**; 299(1): pp. 423-434. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125124>.

DETERMINACIÓN Y COMPARACIÓN DE LA DOSIS EFECTIVA 50 (DE50) DE CARBAMAZEPINA DE PATENTE “TEGRETOL” Y GENÉRICO “CARBAMAZEPINA PSICOFARMA” EN MODELO EXPERIMENTAL DE EPILEPSIA INDUCIDO POR PENTILENTETRAZOL EN RATA DE LABORATORIO CEPA WISTAR.

Emilia Martínez Hernández; Herrera D I; Martínez M; Palmas D; Rodríguez L & Vilchis N.

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (UAM-X), Ciudad de México 04960, México

Docentes: Dr. Luis Alfonso Moreno Rocha y Dr. Camilo Ríos Castañeda.

Correo: emiliaahernandez@gmail.com

Palabras clave: Antiepilépticos; Epilepsia; Genérico; Carbamazepina; Pentilentetrazol.

INTRODUCCIÓN:

La epilepsia es una enfermedad neurológica no contagiosa, que se presenta en forma de crisis, debido a descargas desproporcionadas en las células cerebrales [1]. En condiciones normales, la red neuronal trabaja en conjunto con mecanismos inhibidores, los cuales evitan este tipo de crisis epilépticas. Las neuronas en donde se origina la descarga epiléptica, pasan por un proceso de despolarización, que se mantiene unos segundos antes de recuperar el estado basal, debido a una reducción del mecanismo inhibitorio[2]. La carbamazepina es uno de los antiepilépticos más utilizados en tratamientos y modelos experimentales, por su actividad anticonvulsiva que le proporciona el grupo carbamilo en la posición 5 [3] de la estructura tricíclica [5]. Este fármaco, actúa inhibiendo los canales de sodio [1], durante el disparo neuronal repetitivo y sostenido, evitando la potenciación posttetánica [3]. Principalmente por un decremento en la velocidad de recuperación de los conductos del Na⁺ activados por voltaje, a partir de la inactivación [5]. Este fármaco administrado de manera oral [5] se absorbe considerablemente, pero con lentitud [2] en el tubo digestivo [3]. Al ser un potente inductor de las enzimas hepáticas microsómicas [2], es decir, que incrementa su conversión en metabolitos activos por las enzimas oxidativas hepáticas [5], su depuración aumenta y las concentraciones plasmáticas disminuyen hasta un 50 % [3]. Este fármaco, se distribuye con rapidez por todos los tejidos [5]. Su biodisponibilidad es de 75-85% [6][5]. En cuanto a su absorción es poco probable que la ingesta de alimentos ejerza efectos significativos, a pesar de que se absorbe casi por completo en el tracto gastrointestinal [6]. Se excreta principalmente como metabolitos hidroxilados y conjugados con cantidades mínimas de fármaco inalterado. De los cuales el 72% se detecta en la orina y el resto en heces [6]. El volumen de distribución oscila entre los 0.8-1.2 L/kg [3]. Las concentraciones más altas se encuentran en hígado y riñones. Aunque este atraviesa de forma variable la barrera hematoencefálica [6]. Los efectos secundarios, son más frecuentes al inicio del tratamiento [3] y son: somnolencia, vértigo, ataxia, diplopía y visión borrosa [5]. Una complicación tardía del tratamiento con carbamazepina es la retención hídrica [2][5]. Entre otros efectos secundarios se encuentran las alteraciones hematológicas graves [2][5]. Sin embargo, suelen ser efectos transitorios que mejoran al reducir la dosis [3]. Puede incrementarse la frecuencia de convulsiones, sobre todo en caso de sobredosificación [5]. De acuerdo al tipo de producción del fármaco, se clasifica como “genérico” o “patente”. Este último, hace alusión a la presentación farmacéutica creada originalmente por la compañía que realizó los ensayos clínicos correspondientes, y el estado le concedió el derecho exclusivo para distribución y venta por un tiempo determinado. Un medicamento genérico es aquel vendido bajo la denominación del principio activo que incorpora, siendo bioequivalente a la de patente [7]. Una inadecuada producción farmacéutica, puede llegar a eliminar las cualidades fundamentales de una sustancia activa. Por lo que, sin importar el lote o fecha de fabricación, se deben. deben de llevar a cabo diversos estudios clínicos que proporcionen resultados semejantes en cuanto a su efectividad. A pesar del criterio de costo-beneficio, siguen existiendo inquietudes en cuanto al funcionamiento de medicamentos genéricos antiepilépticos. La epilepsia, al ser una condición crónica que afecta negativamente el estado social, psicológico y neurocognitivo de la persona, requiere de manera imperativa, tanto evitar convulsiones, como minimizar los efectos adversos [9]. La base farmacocinética de los fármacos antiepilépticos es desconcertante [10], ya que diversos estudios se han dedicado a comparar la efectividad entre formulaciones genéricas y de patente [9][10][11]. Por ende, este trabajo pretende revisar la comparativa de la carbamazepina en sus presentaciones genéricas y de patente; con un modelo matemático de Doble Recíproca. Se han desarrollado diversos modelos experimentales en ratas, utilizando pentilentetrazol (PTZ), como inductor epiléptico [2]. El PTZ es un compuesto heterocíclico orgánico, que, en la actualidad se utiliza experimentalmente para estudiar el fenómeno de las convulsiones e identificar fármacos que puedan controlar la susceptibilidad las mismas [2]. Este actúa en el tronco

encefálico o la médula espinal para producir convulsiones tónicas o clónicas, a menudo eliminando el tono inhibitor normal. Además, es considerado un antagonista no competitivo del GABA [12].

OBJETIVO:

Hacer una análisis de la determinación y comparación de la dosis efectiva 50 (DE50) de carbamazepina de patente “Tegretol” y genérico “Carbamazepina PsicoFarma” en modelo experimental de epilepsia inducido por pentilentetrazol en rata de laboratorio cepa Wistar.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se utilizaron 8 ratas macho de la cepa Wistar, procedentes del bioterio de la UAM Xochimilco, con un peso promedio de 403 g. Se siguieron estrictamente las condiciones para su manejo con base a lo que dicta la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. (Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio). Estuvieron sujetos a una alimentación en base de agua potable y croquetas que cubrieran sus necesidades nutricionales. Asimismo, estos fueron seleccionados de forma aleatoria y se etiquetaron con un rotulador de agua adecuadamente en la cola para su fácil identificación. Se tiene como objeto cuantificar los estímulos y los cambios que se producen, mediante la escala de comportamiento, la llamada escala de Racine, que ayuda a monitorizar y mantener el control del desarrollo progresivo de las crisis en el transcurso del tiempo [13][14]. Se formaron aleatoriamente tres grupos de ratas, de los cuales se contaba con un número en específico de ratas y se identificaron de la siguiente manera: “Grupo genérico” (tres ratas), “Grupo patente” (tres ratas) y “Grupo control” (2 ratas). En donde en el grupo genérico y patente, se le administraron por vía oral dosis de 40, 80 y 120 mg/kg de carbamazepina, respectivamente a cada una de las ratas; con la diferencia de que el grupo genérico se administró Carbamazepina PsicoFarma, mientras que en el grupo patente con Tegretol; ambas formas farmacéuticas en suspensión, sin embargo, en el grupo control no fue administrado ninguna dosis de carbamazepina. Al terminar la administración de carbamazepina en cada una de las ratas, se contabilizaron 30 minutos, para posteriormente administrar por vía intraperitoneal PTZ a una dosis inicial de 30 mg/kg, en donde al pasar 10 minutos y de esta manera, dependiendo de la reacción observada, se les administró una dosis de 15 mg/Kg cada 10 minutos, esto hasta alcanzar llegar una dosis de 90 mg/kg; hasta obtener una fase generalizada de la epilepsia según la fases modificadas de la escala de Racine [12].

Fase	Comportamiento
0	Sin cambio de comportamiento.
1	Mioclónías faciales.
2	Movimientos de masticación.
3	Mioclónías de miembros anteriores.
4	Posición de canguro.
5	Crisis generalizadas motoras.

Tabla 1. Modificación de la Escala de Racine.

Esta investigación pretende revisar la comparativa de la DE50 de la carbamazepina en sus presentaciones genéricas y de patente; con un modelo de farmacocinética representado con un análisis doble recíproca, utilizando pentilentetrazol (PTZ) como inductor del Status epilepticus (SE) en ratas (es importante mencionar que adicionalmente se ocuparon 2 ratas control a las que solo se les administró PTZ para inducir el SE). Inicialmente se administraron dosis de 40, 80 y 120 mg/kg de carbamazepina de patente y genérico a 6 ratas Wistar en formas farmacéuticas de suspensión donde los resultados obtenidos se representaron a modo de gráficas dosis-respuesta, donde también se muestran los datos obtenidos en cuanto a tiempo en el que las ratas tardaron en llegar a la fase 5 de crisis generalizada contra las dosis administradas de CBZ y así mismo la representación porcentual del efecto, que ya antes se mencionó. Los datos de este estudio sugieren realizar investigaciones con una población mayor con el fin de llevar a cabo un análisis estadístico pertinente que reafirme lo concluido en este trabajo.

RESULTADOS: *

Los resultados se obtuvieron por la progresión de las dosis de PTZ administradas. Estos resultados atienden a las fases modificadas de la Escala de Racine que se pueden extrapolar a las condiciones de epilepsia en humanos. Clasificadas como crisis parciales y generalizadas [2], cada una con sus respectivas variantes. Se realizó análisis farmacométrico utilizando Doble recíproca. Posteriormente, se calculó el Efecto Máximo (Emax) y la Dosis Efectiva 50 (DE50); para el grupo genérico y el grupo patente respectivamente.

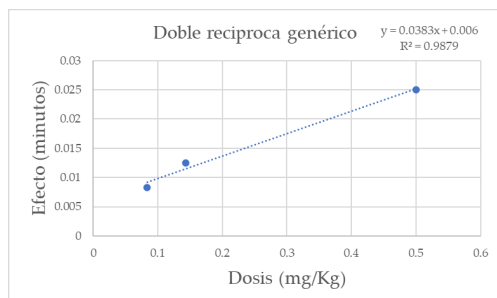


Figura 1.

Gráfica doble recíproca del grupo genérico donde se pudo obtener del efecto máximo, Kd y DE50 con respecto a la ecuación de pendiente.

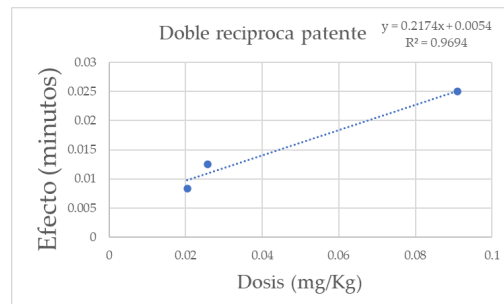


Figura 2.

Gráfica doble recíproca del grupo patente donde se obtiene el análisis doble recíproca para la determinación del Efecto máximo, Kd y DE50 respectivamente y conforme a la ecuación de pendiente.

Grupo	Emax	DE50
Genérico	166.66666	6.38333
Patente	185.18518	40.25925

Tabla 2. Resultados del Efecto Máximo y la Dosis Efectiva 50.

CONCLUSIONES:

En este estudio se comparó las formulaciones de patente y genérico del antiepiléptico CBZ utilizando el modelo de kindling con PTZ como inductor epiléptico en ratas, ya que es un modelo que presenta un comportamiento de crisis muy característico que permite una fácil observación y evaluación. Específicamente, nuestros resultados mostraron que para el grupo de ratas a las cuales se les administró tegretol (patente) hay una eficacia anticonvulsiva notable en comparación de carbamazepina PsicoFarma (genérico) en las dosis de 40, 80 y 120 mg/kg administradas. De manera que la dosis de 40 mg/kg tanto genérico como de patente tras la aplicación del PTZ estas ratas no mostraron ninguna fase, hasta la segunda administración, en donde las fases comenzaron a ser notorias al minuto 19, en el grupo genérico se observó una secuencia de conductas caracterizadas por mioclonías faciales y de miembros posteriores y anteriores, según la escala de racine, para el grupo de patente sólo hubo conductas de mioclonías faciales y movimientos de masticación. Posteriormente se siguieron administrando dosis de 15 mg/kg de PTZ y se llegó a una fase generalizada al minuto 22 y 34 respectivamente, en cambio, en la dosis más alta empleada de CBZ (120 mg/kg) en genérico la rata tardó 32 minutos en llegar a la fase generalizada mientras que la de patente se tardó 49 minutos siendo el resultado más satisfactorio en comparación a la del grupo genérico, esto demuestra sus propiedades anticonvulsivas en la epilepsia, además la rata utilizada de control tardó 23 minutos en llegar a esta última fase. Para todas las dosis de PTZ analizadas, las ratas sobrevivieron a las convulsiones. En nuestro experimento se demostró que la diferencia crucial entre las respuestas convulsivas observadas se presentan en función de la dosis empleada de la CBZ y a la sensibilidad al PTZ por parte de la rata, observando las fases según la escala de racine y que eventualmente evolucionan a un estado generalizado. Además, no puede descartarse posibles diferencias en la absorción, penetración y eliminación de la CBZ así como del PTZ en el sistema nervioso central en ratas. Los datos se limitan predominantemente a carbamazepina y la ausencia de un análisis estadístico se debe al reducido tamaño de muestra empleado (los grupos se conformaron por 3 ratas para patente y genérico, 1 rata de control para patente y 1 rata de control para genérico). Si bien es cierto, los resultados de este estudio implican únicamente la evaluación de las convulsiones con tratamiento de CBZ genérico y de patente con gráficas dosis respuesta utilizando el modelo farmacométrico de doble recíproca, obteniendo una DE50 más elevada para el grupo al

cual se le administró Tegretol. La literatura menciona que en los medicamentos genéricos es difícil llevar un registro en cuanto al perfil de eficacia y seguridad [8]. Autores ya han descrito diversos estudios en donde se han dedicado a comparar la efectividad entre formulaciones genéricas y de patente [9][10][11]. Sin embargo, sería importante para apoyar nuestros hallazgos realizar a futuro investigaciones con una población mayor con el fin de llevar a cabo un análisis estadístico pertinente. Con esto se concluye que la suspensión de 2mg/100ml con nombre comercial “Tegretol” (patente) tuvo una mejor respuesta en las ratas a las que se les administró, mostrando un mayor grado de protección ante las crisis convulsivas generalizadas en comparación con “carbamazepina Psicofarma” 2mg/100ml (genérico). Por lo tanto el propósito principal de esta investigación pudo concluirse de manera exitosa. Cabe destacar que los grupos de ratas mostraron una mayor susceptibilidad en la fase 4 y 5 de las crisis generalizadas en la escala de Racine. La evidencia demuestra que un medicamento antiepiléptico innovador o genérico de un fármaco proporcionará una eficacia, tolerabilidad y seguridad similares. Sin embargo, los datos obtenidos en esta investigación muestran que el fármaco patente tiene mejor respuesta, es por esto por lo que se sugiere realizar investigaciones con una población mayor, considerando las concentraciones administradas de genérico y patente en modelo de pentilentetrazol, esto con el fin de llevar a cabo un análisis estadístico y con ello, reafirmar lo concluido en este trabajo, o de lo contrario, refutar los resultados obtenidos.

*ANEXO:

Los resultados serán modificados a una escala con mayor número de ratas cepa Wistar, para el día de presentación. Con el objetivo de poder hacer un análisis estadístico de mayor profundidad.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Rang HP, Ritter JM, Flower R y Henderson G. Farmacología 8va ed. Barcelona: Elsevier; 2016.
2. Penna P y Tormoehlen L. Farmacología y toxicología de los fármacos anticonvulsivos de tercera generación. J Med Toxicol. 2017; 13 (4): p. 329–342.
3. Aristil-Chéry PM. Manual de farmacología básica y clínica. México: Mc Graw Hill Education; 2010.
4. McNamara J. Farmacoterapia de las epilepsias. En: Laurence L. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12va ed. México: Mc Graw Hill Education; 2012.
5. Fernández- Ruiz J, Lago-Femia E, Sagredo-Ezkioga O y Ramos-Atance JA. Introducción a la farmacología del sistema nervioso central: neurotransmisores, receptores y otros elementos sinápticos. En: Lorenzo-Fernández P, Moreno-González A, Leza-Cerro JC, Lizasoain-Hernández I, Moro-Sánchez MA y Portolés Pérez A. Farmacología básica y clínica. 19a Ed. México: Editorial Médica Panamericana; 2018.
6. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 2554: Carbamazepine. 18 de septiembre de 2022.
7. Palma-Aguirre JA. Medicamentos genéricos y originales. ¿Es lo mismo un original que una copia?. Rev Med IMSS. 2005; 43 (4): pp. 277- 279.
8. Aranda M y Rosasco AM. La farmacia de los medicamentos genéricos. Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.2019; 48 (2): p. 357-371.
9. Gurbani S , Chayasirisobhon S, Gurbani A, Tovar S, Pietzsch E y Spurgeon B. Effectiveness at 24 Months of Single-Source Generic Carbamazepine, Lamotrigine, or Levetiracetam in Newly Diagnosed Focal Epilepsy. Perm J. 2020; 25 (1): 20-183.
10. Talati R, Scholle J, Phung O, Baker E, Baker W, Ashaye A, Kluger J, Coleman C, y White M. Efficacy and Safety of Innovator versus Generic Drugs in Patients with Epilepsy: A Systematic Review. PHARMACOTHERAPY. 2012; 32 (4): 314-322.
11. Tothfalusi L y Endrenyi L. Approvable generic carbamazepine formulations may not be bioequivalent in target patient populations. International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics. 2013; 51 (6): p. 525 - 528.
12. PUC CHEM DE PTZ National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5917:. 18 de septiembre de 2022.
13. Racine RJ. Modificación de la actividad convulsiva por estimulación eléctrica: I. Umbral posdescarga. Electroencefalografía y neurofisiología clínica. 1972; 32(3): p. 269–279.
14. McIntyre DC, Poulter MO y Gilby, K. Encendido: algunos viejos y otros nuevos. Investigación sobre la epilepsia. Epilepsy Res. 2002; 50(1-2): p. 79–92.

Nanomedicina Catalítica: bionanocatalizadores antineoplásicos de plata probados en líneas celulares cancerígenas

Francisco J. Padilla-Godínez^{1,2}, Paola Ramírez², Tessy M. López-Goerne^{2,*}

¹ División de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México 04510, México.

² Laboratorio de Nanotecnología y Nanomedicina, Departamento de Atención a la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, Ciudad de México 04960, México.

* Autor de correspondencia: tessy@correo.xoc.uam.mx, +52 55 1951 5658.

Áreas: Farmacología y Toxicología.

Resumen: Los bionanocatalizadores son nanoestructuras catalíticas inorgánicas cuya superficie está recubierta de materiales orgánicos que imitan las condiciones celulares. En los últimos años, los bionanocatalizadores han atraído la atención debido a sus excelentes propiedades, como son su tamaño de partícula inferior a 100 nm, elevada superficie específica, estructura mesoporosa, estabilidad térmica y actividad catalítica selectiva, las cuales se pueden conseguir variando las condiciones de síntesis mediante el método sol-gel. A través de su mecanismo de acción, los biocatalizadores pueden inhibir el crecimiento celular catalizando directamente la ruptura de los enlaces carbono-carbono y carbono-nitrógeno en las moléculas de ADN, independientemente de la secuencia del material genético, sin la formación de compuestos secundarios que afecten al resultado citotóxico. Además, los bionanocatalizadores potencializan las propiedades inherentes de los metales de transición cuando se estabilizan en una matriz catalítica compuesta de titanosilicatos, de tal forma que una menor concentración obtiene iguales resultados que concentraciones mayores. El platino, en particular, es conocido por sus efectos antitumorales y antibacterianos. Sin embargo, debido a su alto costo, es necesario buscar metales alternativos con una actividad comparable y una mayor selectividad y biocompatibilidad. En este contexto, la plata (Ag) ha sido ampliamente estudiada por su actividad bactericida contra las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Además, recientemente, la Ag nanoestructurada se ha asociado con la actividad anticancerígena. Sin embargo, las condiciones médicas y ambientales asociadas a la deposición de plata hacen necesaria la investigación de estrategias para optimizar las propiedades del material, de modo que se pueda conseguir el mismo efecto terapéutico con concentraciones más bajas. Por ello, en este estudio se evaluaron las propiedades fisicoquímicas de bionanocatalizadores (Ag/TiO₂-SiO₂) impregnados con diferentes concentraciones de Ag y se investigaron los posibles cambios estructurales o funcionales causados por la adición del metal. Además, se investigó el potencial efecto antitumoral del bionanocatalizador, así como la cantidad mínima de Ag estable necesaria para conseguir el efecto citotóxico, como primera aproximación a su efecto anticancerígeno sobre líneas celulares de cáncer de cuello de útero.

Palabras clave: Nanomedicina Catalítica; bionanocatalizador; antineoplásico; plata.

Financiamiento: CONACyT (CVU 1037918).

IMPACTO DEL PROCESO INMUNOLÓGICO EN EL EMBARAZO COMO FACTOR DE
ACORTAMIENTO CERVICAL : PRINCIPAL CAUSA DE PREMATUREZ

Dra. Alejandra Itzel Contreras Rivas. Estudiante Doctorado en Ciencias Biológicas y de la salud UAM-X, Pediatra-Neonatóloga.

Dr. Gastón Eduardo Estudillo Jiménez. Medicina Materno fetal – Cirujano Fetal. Egresado Licenciatura en Medicina UAM-X

Introducción

El parto prematuro se define como el nacimiento que ocurre a las 37 semanas de gestación o antes y sigue siendo uno de los problemas más difíciles de tratar que contribuye a la morbilidad y mortalidad perinatal en la práctica obstétrica¹

En México, en el año 2011, según el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) se registraron 2,586,287 nacidos vivos. De acuerdo con la OMS, la tasa de parto pretérmino en México es de 8.6% de los nacidos vivos. Tomando en cuenta el número de nacimientos y la tasa de parto pretérmino, en el 2011 hubo aproximadamente 222,421 nacidos vivos antes de las 37 semanas. De acuerdo con estos porcentajes 77,847 nacimientos sucedieron en forma espontánea. Luego de clasificar de acuerdo con la edad al momento del nacimiento, 5% sucede antes de las 28 semanas, 15% entre las 28 y 31 semanas, 20% entre las 32 y 33 y 60% entre las 34 y 37 semanas.²

La tasa de supervivencia va en relación con edad gestacional al nacimiento, Actualmente, más del 90% de los bebés nacidos antes de las 28 semanas de gestación sobreviven en países desarrollados, ya que cuentan con infraestructuras de, capacitación adecuada, pero en entornos o países en vías de desarrollo solo el 10% de estos bebés o menos sobreviven, este último porcentaje en el cual se encuentra México.

Planteamiento del problema

Aunque ha habido grandes avances en nuestra comprensión de las vías moleculares y celulares que operan en los tejidos reproductivos en el mantenimiento de la inactividad uterina durante el embarazo y en el inicio del trabajo de parto prematuro y a término, nuestro conocimiento de la fisiopatología del parto prematuro es limitado. Por lo tanto, se deben identificar más factores de riesgo de parto prematuro mediante estudios epidemiológicos para proporcionar una buena evidencia para la prevención y el tratamiento del parto prematuro.

Finalmente, la identificación de los factores de riesgo podría proporcionar información importante sobre los mecanismos que conducen al parto prematuro. Hay muchas características maternas o fetales que se han asociado con el parto prematuro, incluidas las características demográficas maternas, el estado inmunológico, nutricional, los antecedentes de embarazo, las características del

Fig1. Corte sagital con sonda endovaginal en paciente embarazada a las 17 semanas de gestación con evidencia de longitud cervical de 17 mm (acortamiento cervical), así como funnel importante.

Fig2. Corte sagital con sonda endovaginal en paciente embarazada a las 19 semanas de gestación con evidencia de longitud cervical de 23 mm (acortamiento cervical)

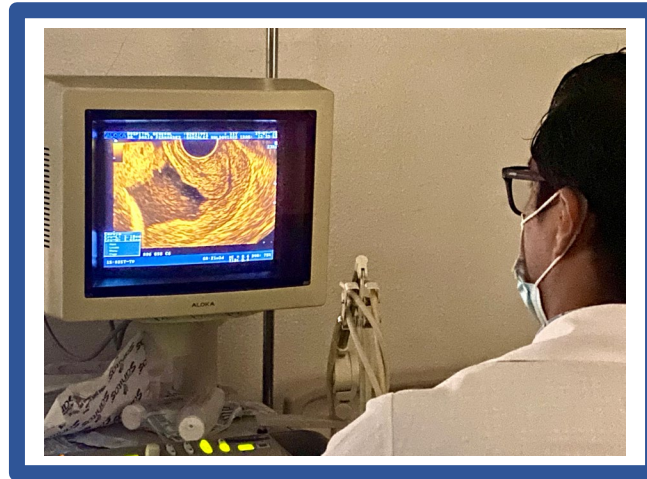


Fig 3. Lavvaloracion como tamizaje universal a toda paciente embarazada.

Discusion

Dentro de la fisiopatología conocida, en el sistema inmunitario en el embarazo, el papel de la inflamación durante la implantación es esencial, ya que el embrión funciona como cuerpo extraño.

La existencia en relación del sistema inmunitario y enfermedades de la colágena es foco de estudio, no solo en paciente con infertilidad sino en aquellas embarazadas y evolución.

Durante el embarazo normal, esta inflamación es iniciada por el trofoblasto e implica la supresión de la infiltración de neutrófilos, el reclutamiento de células asesinas naturales en el sitio de implantación, así como la producción de una variedad de citocinas proinflamatorias.

Podríamos llamar “ventana de implantación”, cuando el útero se prepara para producir varias señales inflamatorias, como la prostaglandina E2 y una variedad de citoquinas proinflamatorias, que incluyen FNT, IL6.

La unidad fetoplacentaria es un injerto semiextraño, y el reconocimiento del embarazo por parte de la madre que es el “huesped” y la tolerancia inmunológica materna resultante es una parte esencial del embarazo a término, exitoso y sano.

La relación que existe en un cervix corto y deficiencia inmunitaria para no lograr un embarazo sano y por ende a término es pues evidente ante una deficiencia del proceso de calidad nivel de progesterona.

Debido a la reducción funcional o absoluta de la progesterona circulante (debido a depleción de la producción de hormonas secretadas fisiológicamente por placenta alrededor de semana 36, volviéndose el efecto de la esta hormona deficiente desde días o semanas antes.

Por lo tanto, no se logra suprimir la producción de IL8 y otras citocinas inflamatorias, pausando el mecanismo inflamatorio, lo que lleva a un acortamiento cervical precoz, madurando cervix y por lo tanto presentando una pérdida gestacional o parto prematuro.⁵

Existen lineamientos y guías internacionales, incluyendo la guía práctica clínica nacional, en donde se mencionan la importancia de realizar medición longitud cervical, sin embargo la poca implementación de las recomendaciones, como realizar la medición vía vaginal, se considera “gold standard”, implementar progesterona perlas vaginales en casos necesarios, desde primeros niveles de atención en la embarazada llevan a que se busque tardíamente intervención, evitando contrarrestar este riesgo alto de nacimiento prematuro.

Conclusion:

El conocimiento de la fisiopatología inmunitaria en el embarazo, así como la realización de exploración clínica y ecográfica es la mejor herramienta para tratar a toda paciente con riesgo alto de parto prematuro.

Es necesario más estudios en rama inmunitaria en los procesos de gestación, ya que la variedad geográfica y social implica un sesgo del estado actual de nuestras pacientes embarazadas en México.

Bibliografía:

1 He X, Wang P, Wang Z, He X, Xu D, Wang B. Thyroid antibodies and risk of preterm delivery: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Endocrinol.* 2012 Oct;167(4):455-64. doi: 10.1530/EJE-12-0379. Epub 2012 Jul 23. PMID: 22826476.

2 Hannah Blencowe, Cols. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications. *The Lancet.* Volume 379 Issue 9832 Pages 2162-2172 (June 2012). DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60820-4.

3 Robert L Goldenberg, Jennifer F Culhane, Jay D Iams, Roberto Romero. Preterm Birth 1 Epidemiology and causes of preterm birth. *The Lancet*, Vol: 371, January 05, 2008 DOI:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60074-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60074-4).

4 Iams, Jay D.; Goldenberg, Robert L.; Meis, Paul J.; Mercer, Brian M.; Moawad, Atef; Das, Anita; Thom, Elizabeth; McNellis, Donald; Copper, Rachel L.; Johnson, Francee; Roberts, James M..

Length of the Cervix and the Risk of Spontaneous Premature Delivery. Obstetrical & Gynecological Survey: August 1996 - Volume 51 - Issue 8 - p 459-4605
5 Vilmos Fülöp cols. The relationship between inflammatory and immunological processes during pregnancy. *Practical aspects Orv Heti* 2019 Aug;160(32):1247-1259. doi: 10.1556/650.2019.31448.

EL PRAMIPEXOL PREVIENE EL DESARROLLO DE LA NOCICEPCIÓN AGUDA Y LA HIPERSENSIBILIDAD DE LARGO PLAZO INDUCIDA POR FORMALINA

Jazmín Santamaria Anzures¹, Jaime Pérez Villanueva², Beatriz Godínez Chaparro³.

^{1,3}Laboratorio de Farmacodinamia de Inflamación y Dolor, Departamento Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud; ²Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Ciudad de México, México, Laboratorio de Síntesis y Aislamiento de sustancias bioactivas, Departamento Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Ciudad de México, México.

*Autor de correspondencia: Jazmín Santamaria Anzures
Correo: (jazminsantamaria95@hotmail.com)

Palabras clave: Pramipexol, alodinia, hiperalgesia, formalina

INTRODUCCIÓN: Las respuestas de dolor, como alodinia e hiperalgesia, ante estímulos térmicos o mecánicos son comunes después del daño tisular o de un proceso inflamatorio. La **hiperalgesia** se define como el incremento en la sensibilidad a los estímulos dolorosos y la **alodinia** se define como una sensación dolorosa provocada por los estímulos inocuos^[1]. El tratamiento farmacológico disponible para la alodinia y la hiperalgesia, generalmente, es inadecuado y reduce temporalmente los síntomas; además, de producir efectos secundarios de consideración. Por lo tanto, es importante la búsqueda de tratamientos efectivos que ayuden al manejo terapéutico adecuado de la alodinia y la hiperalgesia, lo que ha llevado a la exploración de nuevas alternativas farmacológicas y al reposicionamiento de fármacos ya existentes como el pramipexol (PPX).

El PPX es un agonista dopaminérgico D2/D3 que ha demostrado tener efecto antiinflamatorio en modelos animales^[2]. Además, el PPX produce actividad antialodínica y antihiperalgésica en animales con la enfermedad de Parkinson^[3]. Sin embargo, aún no se conocen los mecanismos que subyacen el efecto antialodínico y antihiperalgésico inducidos por éste. En consecuencia, el presente proyecto se enfocó en dilucidar la participación de la vía NFκB en el efecto antialodínico y antihiperalgésico inducido por PPX en ratas administradas con formalina.

OBJETIVO: Determinar si el pretratamiento sistémico agudo con PPX previene la nocicepción aguda y la hipersensibilidad (alodinia e hiperalgesia) de largo plazo inducidas por la administración intraplantar de formalina al 1% en ratas, a través de la interacción con NFκB.

MATERIALES Y MÉTODOS: La prueba de la formalina aguda consiste en la cuantificación del número de sacudidas de la extremidad trasera derecha durante 1 min, cada 5 min, hasta completar 60 min de evaluación. Seis días después, a estos mismos animales se les evaluó la alodinia con el filamento de von Frey de 1 g, mientras que la hiperalgesia se evaluó con el filamento de 26 g. Asimismo, con la finalidad de identificar el mecanismo responsable que subyace el efecto antinociceptivo inducido por PPX. En el presente trabajo se exploró la posible interacción de PPX con NFκB a través de un docking molecular.

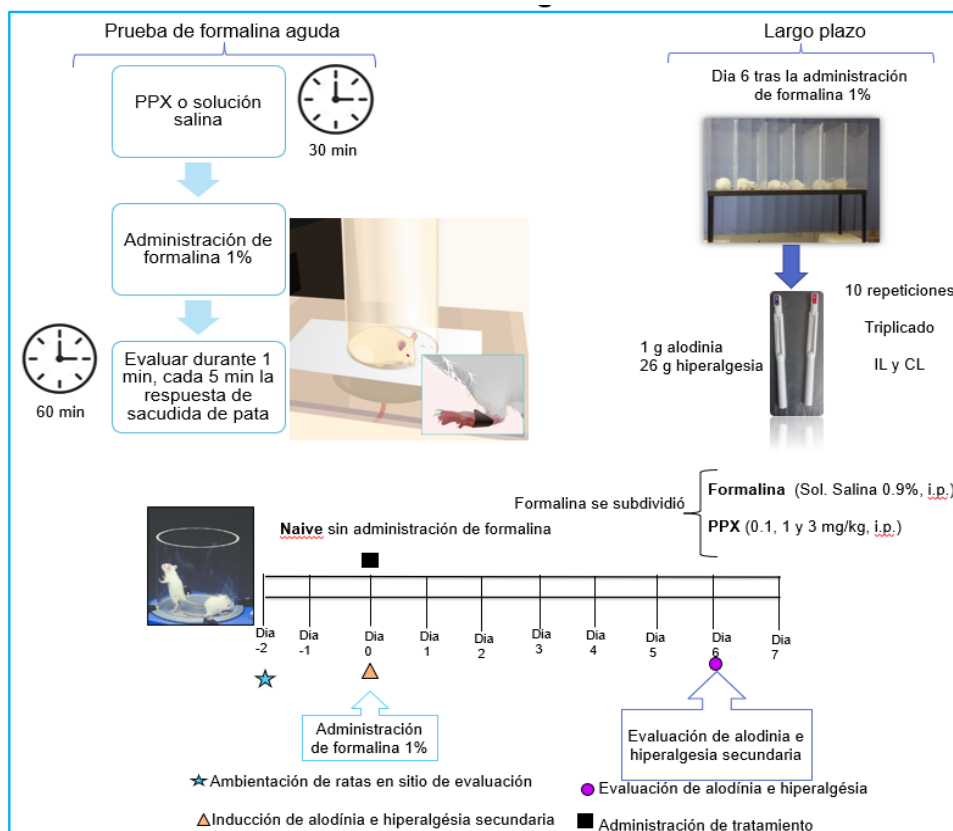


Figura 1. Metodología para la evaluación de la nocicepción aguda y la hipersensibilidad de largo plazo inducidas por formalina en rata.

RESULTADOS: El pre-tratamiento intraperitoneal (i.p.) de dosis crecientes de PPX redujo significativamente (1 y 3 mg/Kg) las respuestas de sacudida de la

extremidad trasera derecha en la fase II, pero no en la fase I.

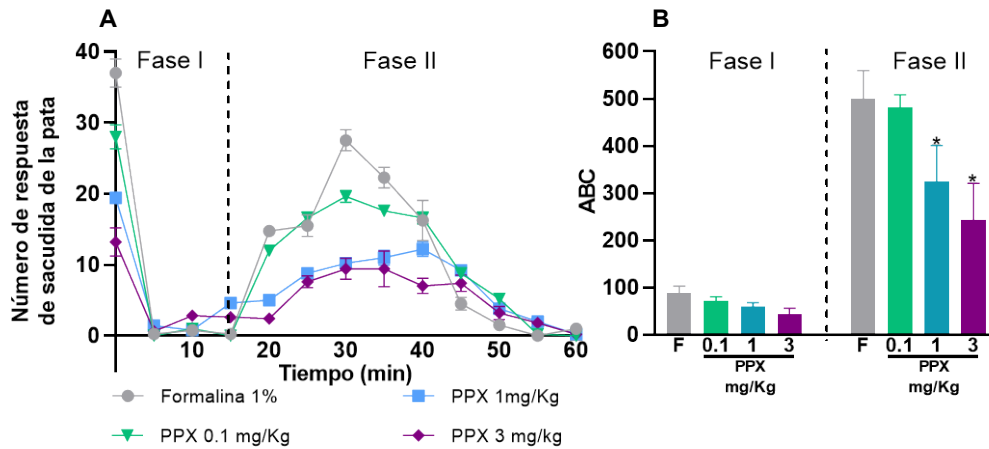


Figura 2. Curso temporal (A) y área bajo de curva (B) pre-tratamiento intraperitoneal con pramipexol sobre las respuestas nociceptivas inducidas por formalina al 1% en ratas administradas con formalina al 1%.

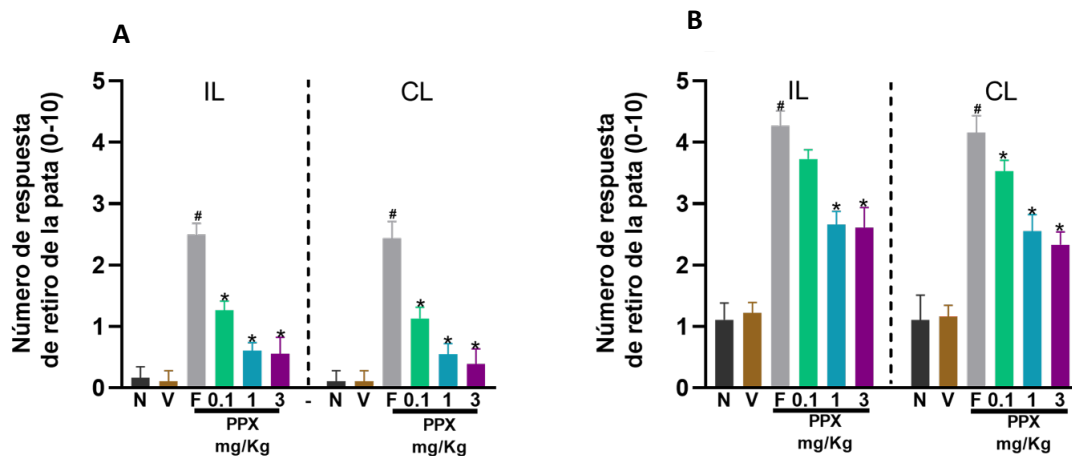


Figura 3. Respuesta de retiro de la pata (A y B), alodinia (B) e hiperalgesia (B) fueron determinadas 6 días después de la administración de formalina.

El PPX presentó en el docking molecular una energía de unión de (-5.1 Kcal/mol, Vina), (43.4 CHEMPLP, 35.74 GoldScore, GOLD), (-5.6 Kcal/mol, AutoDock 4.2), siendo los residuos VAL 91, GLY 117, GLY 44, GLN 119, SER 42, ALA 43, ARG 41, ARG 35 donde se presentan dichas interacciones. Estos resultados sugieren la posible interacción entre NFkB-p65 y PPX, a partir de esto podría inhibir la cascada

de señalización de NFκB-p65 y con ello estar modulando el efecto antialodínico y antihiperálgico producido por PPX.

Tabla 1. Resultados del acoplamiento molecular de PPX con NFκB obtenidos con Vina, Gold y AutoDock

	Vina Energía de unión (Kcal/mol)	Gold CHEMPLP	Gold Goldscore	AutoDock 4.2 Energía de unión (Kcal/mol)
NFKB-IKB	-5.1 (C)	43.4	35.74	-5.6

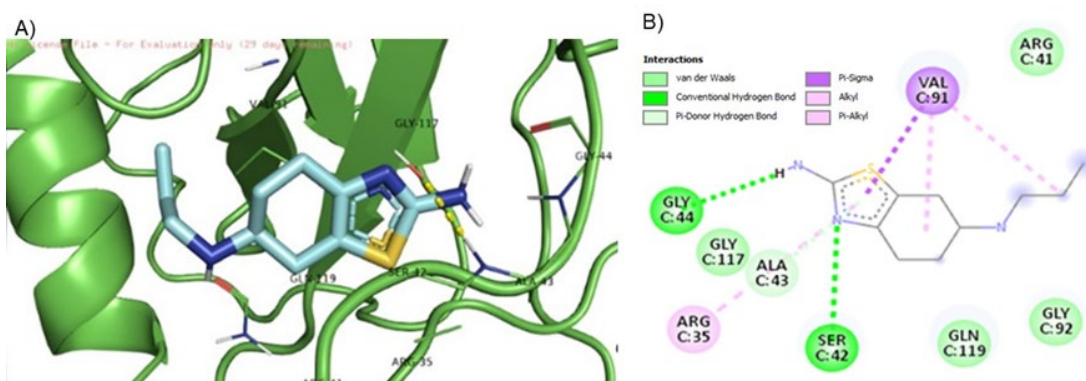


Figura 4. Acoplamiento molecular. A) El Acoplamiento NFκB-PPX muestra interacciones con los residuos de aminoácidos VAL 91, GLY 117, GLY 44, GLN 119, SER 42, ALA 43, ARG 41, ARG 35, resultados obtenidos en PymOL. B) Interacciones de residuos de aminoácidos de NFκB-PPX obtenidos en Discovery Studio; se muestran interacciones de puente de hidrógeno, Van der Waals, pi-sigma, alquilo, pi-alquilo.

CONCLUSIONES: El pre-tratamiento intraperitoneal con PPX previene las conductas nociceptivas agudas inducidas por formalina en la fase II. Además, el pre-tratamiento intraperitoneal de PPX es capaz de prevenir el desarrollo de la alodinia y la hiperálgia secundaria inducidas por formalina. Además, se estableció la posible interacción de PPX con NFκB-p65 como posible mecanismo de acción responsable de inducir el efecto antialodínico y antihiperálgico.

BIBLIOGRAFÍA:

[1] C. J. Woolf, *Pain* **2011**, *152*, S2–S15.
 [2] H. Sadeghi, M. Parishani, M. Akbartabar Touri, M. Ghavamzadeh, M. Jafari Barmak, V. Zarezade, H. Delaviz, H. Sadeghi, *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* **2017**, *39*, 80–86.



Casa abierta al tiempo

IX Congreso del Departamento de Sistemas Biológicos



- [3] H. A. Romero-Sánchez, L. Mendieta, A. M. Austrich-Olivares, G. Garza-Mouriño, M. Benitez-Diaz Mirón, A. Coen, B. Godínez-Chaparro, *Eur. J. Pharmacol.* **2020**, 869, 172814.

EFECTO DEL 17-B ESTRADIOL Y/O PROGESTERONA SOBRE LOS
DESPERTARES INTERMITENTES EN RATAS OVARIECTOMIZADAS

Nayely Carrasco Nuñez^{1,2}, Marisa Cabeza Salinas¹, Marta Romano², Alberto Ávila¹

¹ Departamento de Sistemas Biológicos y de Atención a la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana -Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso 1100, Ciudad de México.

² Departamento de Fisiología, CINVESTAV. Av. Politécnico Nacional 2508, Ciudad de México. México.

*Autor de correspondencia: nayelyqfb@outlook.com

Palabras clave: GAD, 17 β -estradiol, progesterona y menopausia.

INTRODUCCIÓN: La menopausia es el último periodo de la función normal y cíclica del ovario y marca el cese de las menstruaciones como consecuencia de la pérdida de la función ovárica [Capote *et al.*, 2011]. En esta etapa se presentan un conjunto de síntomas como: sofocos, resequedad vaginal, problemas urinarios, trastornos del sueño como lo es el insomnio o despertares intermitentes, trastornos respiratorios nocturnos, somnolencia excesiva durante el día, movimientos o comportamientos anormales durante el sueño y la incapacidad para dormir en el momento deseado de los cuales desencadenan en cambios en el estado anímico como depresión, ansiedad e irritabilidad todos estos asociados a la disminución de las hormonas ováricas [IMSS, 2013]. Actualmente, la terapia hormonal o de reemplazo se utiliza para tratar los síntomas de la menopausia, esta terapia consta de la administración de estrógenos conjugados como el 17 β -estradiol y/o de progesterona oral o subcutánea, sin embargo, este tipo de tratamiento requiere de un seguimiento clínico riguroso y se caracteriza por ser una terapia individualizada. [Capote *et al.*, 2011]. Sin embargo, hasta el día de hoy no se ha esclarecido la etiología de las hormonas sexuales en la regulación del ciclo sueño-vigilia principalmente por los diversos métodos de evaluación de estos trastornos, por lo que este trabajo se enfoca en determinar el papel del 17 β -estradiol y/o progesterona en el número despertares intermitentes producidos por la carencia de estrógenos y progesterona en un modelo murino.

OBJETIVO (S): Determinar el efecto del tratamiento con 17 β -estradiol y/o progesterona en dosis escalonadas sobre los despertares intermitentes en un modelo de rata adulta ovariectomizada.

MATERIALES Y MÉTODOS: Los experimentos se llevaron a cabo en ratas Wistar hembra que pesaban 150-200 g al comienzo de la cirugía. Los animales tenían libre acceso a comida y agua, se alojaron seis por cada jaula, y se mantuvieron en un cuarto a (23 \pm 1 ° C) bajo un ciclo de luz / oscuridad de 12/12 h (luz que comienza a las 8:00 a.m). Todos los procedimientos para el tratamiento de animales fueron revisados y aprobados por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio, (CICUAL) de la Unidad de Producción y Experimentación Animal (UPEAL) de la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Xochimilco. (Protocolo CICUAL aceptado N° 98/2013 y actualizado 2019). El procedimiento quirúrgico de ovariectomía bilateral se llevó a cabo bajo anestesia general con fenobarbital sódico (25 mg / kg, por vía intraperitoneal). Se ovariectomizaron 28

ratas Wistar; así mismo 6 ratas más se tomaron como control (SHAM, después de la operación se administró un analgésico no esteroideo (Dipirona sódica 20 mg/kg) y un antibiótico (Amoxicilina 10 mg/ kg) a todas las ratas durante 7 días como tratamiento profiláctico post-quirúrgico. Durante el experimento se formaron 5 grupos de 6 ratas ovariectomizadas; de los cuales se probaron 5 diferentes tratamientos de 17β -estradiol y/o progesterona la administración se realizó cada 24 horas por un periodo de 7 días por vía subcutánea (SC) cada tratamiento. Así mismo otro grupo de ratas ovariectomizadas se tomó como grupo control siendo administrado un vehículo (aceite de sésamo).

A continuación, se muestra el esquema de tratamiento.

GRUPO	SEMANA1	SEMANA2	SEMANA3	SEMANA4	SEMANA5
<i>SHAM</i>	-	-	-	-	-
<i>VEHICULO</i>	100 μ L aceite de sésamo				
<i>PROGESTERONA</i>	0.3 mg/kg	0.6 mg/kg	1.2mg/kg	2.4 mg/kg	4.4mg/kg
<i>17β ESTRADIOL</i>	0.08mg/Kg	0.16mg/kg	0.175mg/kg	0.33 mg/kg	0.66mg/kg
<i>PROGESTERONA /17βESTRADIOL</i>	0.3 mg/kg +	0.6 mg/kg +	1.2mg/kg +	2.4 mg/kg +	4.4mg/kg +
	0.08mg/Kg	0.16mg/kg	0.175mg/kg	0.33 mg/kg	0.66mg/kg

Antes de iniciar con los tratamientos experimentales se instaló cámaras de vídeo y se mantuvieron encendidas por un período de 12 horas durante el día (periodo de sueño de las ratas) filmando a las ratas experimentales y controles. Los vídeos se visualizarán en una computadora y se contará el número de despertares. Este procedimiento se repitió diariamente, durante 4 días.

Una vez terminado el tiempo de filmación, los grupos experimentales se administraron según el esquema de tratamiento como se indicó anteriormente; pero esta vez la filmación consto de 12 horas continuas durante el día por un periodo de 7 días cada tratamiento; con la finalidad de monitorear el número de despertares durante los diferentes tratamientos.

Los animales se catalogaron como dormidas si se encontraban con los ojos cerrados, quietas, enrolladas con la cabeza baja o recostada sobre alguno de sus lados, lo que permitirá deducir en qué momento el animal se encontraba en el estado SMOR o SNMOR. [Stephenson, et al., 2013]

RESULTADOS:

Se analizaron 2100 horas continuas de video para la obtención de una base de datos que permitió realizar un análisis estadístico por ANOVA de una vía con prueba Dunnet. (Gráfico 1)

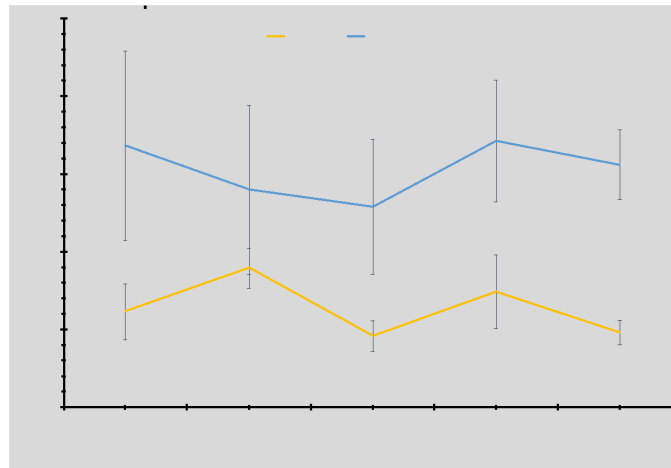


Figura. 2 Muestra el número de despertares promedio de los dos grupos, OVX y SHAM ± error estándar (n=6). Existe una diferencia significativa (P<0.05) entre los grupos OVX y SHAM.

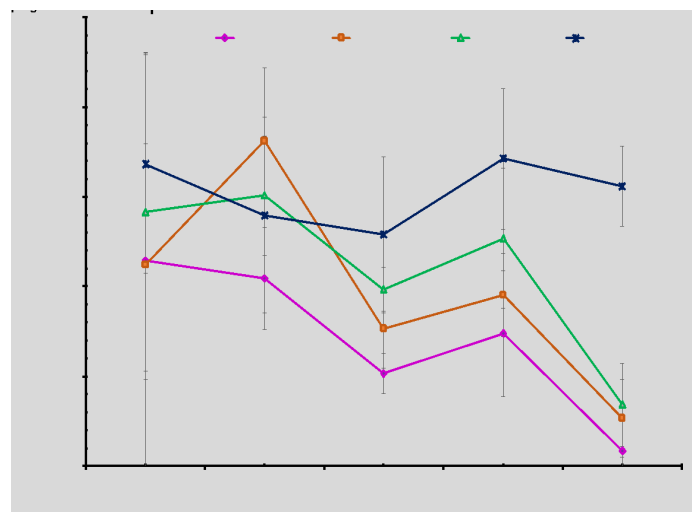


Figura 3. Número de despertares promedio de las ratas OVX y/o tratadas con dosis crecientes semanales de 17β-estradiol y/o progesterona ± error estándar. Existe una diferencia significativa

entre los tratamientos, $P < 0.05$, respecto con el control OVX, en la cuarta y quinta semanas de tratamiento ($n=6$ para todos los grupos).

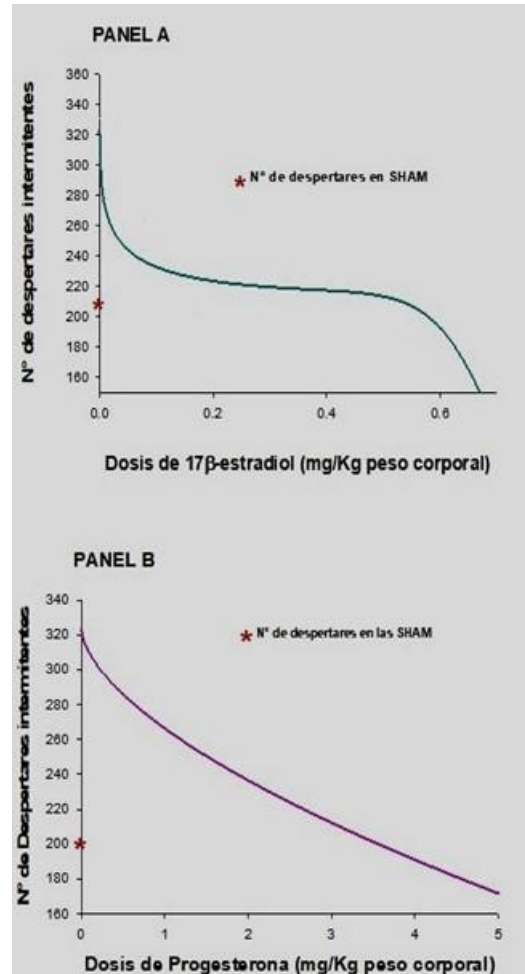


Figura 4. Curva dosis-respuesta 17β estradiol ($DE_{50} = 0.39$ mg/kg) Panel A y Progesterona ($DE_{50} = 4.35$ mg/kg) Panel B. No se observa sinergismo entre estas hormonas.

CONCLUSIONES:

Las hormonas ováricas influyen directamente en la regulación del sueño; siendo que en la etapa del agotamiento folicular primordial donde se observan los diversos trastornos del sueño. La terapia hormonal con 17 β estradiol y/o progesterona en dosis decrecientes partir de 0.33 mg/kg y 1.4 mg/kg respectivamente tiene una diferencia significativa en la disminución en el número de despertares respecto a al control OVX. Sin embargo, estas dos hormonas en combinación no tienen efecto sinérgico por lo que se propone que estas dos hormonas tienen diferente mecanismo de acción en la regulación del sueño

BIBLIOGRAFÍA:

1. Capote, B. M. I., Segredo, P. A. M., y Gómez, Z. O. (2011). Climaterio y menopausia. Revista cubana de medicina general integral, 27(4), 543-557.
2. Instituto Mexicano de Seguro Social (2013) Guía práctica clínica. Diagnóstico y tratamiento de la perimenopausia y posmenopausia. Disponible en línea <http://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/019GER.pdf>
3. Stephenson, R., Famina, S., Caron, A. M., y Lim, J. (2013). Statistical Properties of Sleep-wake behavior in the rat and their relation to circadian and ultradian phases. Sleep, 1377-1390.

Nanomedicina Catalítica: determinación de citotoxicidad y selectividad de bionanocatalizadores antineoplásicos de platino

Tessy M. López-Goerne^{1,*}, Francisco J. Padilla-Godínez^{1,2}, Paola Ramírez¹

¹ Laboratorio de Nanotecnología y Nanomedicina, Departamento de Atención a la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, Ciudad de México 04960, México.

² División de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México 04510, México.

* Autor de correspondencia: tessy@correo.xoc.uam.mx, +52 55 1951 5658.

Áreas: Farmacología y Toxicología.

Resumen: El cáncer representa una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo, siendo la segunda causa de muerte a nivel mundial. Debido a la elevada incidencia y mortalidad de los cánceres de cuello de útero y de próstata, en este estudio les hemos puesto especial atención. Los tratamientos tradicionales del cáncer de cuello de útero y de próstata incluyen la cirugía, la radioterapia y la radioquimioterapia; esta última se basa en la administración de cisplatino. A pesar de ser el principal quimioterapéutico utilizado, el cisplatino presenta graves efectos adversos dependientes de la dosis, como neurotoxicidad, nefrotoxicidad, ototoxicidad, síntomas gastrointestinales, fiebre, hipotenia, alteración del ciclo sueño-vigilia y mielosupresión, así como alteraciones en el hígado, la piel y el aparato respiratorio. En esta línea, los bionanocatalizadores (nanoestructuras catalíticas inorgánicas cuya superficie está recubierta de materiales orgánicos que imitan las condiciones celulares) han demostrado ser capaces de inhibir el crecimiento celular independientemente de la secuencia del material genético al catalizar directamente la escisión de los enlaces carbono-carbono y carbono-nitrógeno presentes en las moléculas de ADN, lo que activa la muerte inducida de la célula. En particular, la estabilización de platino (Pt) en la matriz de titanosilicato de los bionanocatalizadores potencializa su efecto citotóxico al tener un tamaño de partícula < 1 nm. Sin embargo, el perfil altamente tóxico del Pt y la falta de selectividad de los compuestos antitumorales derivados de éste (como el cisplatino) hacia las células cancerosas llevan a importantes toxicidades agudas y crónicas derivadas de la dosis administrada. Por ello, en el presente trabajo evaluamos el efecto citotóxico de bionanocatalizadores de Pt sobre dos líneas celulares cancerígenas, cérvico (HeLa) y prostático (DU-145), de tal forma que pudiéramos determinar la concentración requerida para obtener un 50% de mortalidad celular (IC₅₀). De igual forma, para demostrar su selectividad, aplicamos los bionanocatalizadores a una línea celular sana (fibroblastos) y medimos el IC₅₀, de manera correspondiente.

Palabras clave: Nanomedicina Catalítica; bionanocatalizador; antineoplásico; platino.

Financiamiento: CONACyT (CVU 1037918).

BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA CON EXTRACTO DE TÉ VERDE (*CAMELLIA SINENSIS*) Y SU EFECTO ANTIMICROBIANO SOBRE EL MICROBIOMA ORAL

Lorena Elizabeth Sánchez Lara^{1*}, Aída Hamdan Partida², Francisco Javier Martínez Ruiz², Samuel González García², Nelly María Molina Frechero², Jaime Amadeo Bustos Martínez², Abraham Faustino Vega³.

¹Maestría en Ciencias Odontológicas ²Depto. Atención a la Salud ³Depto. Sistemas Biológicos

*Autor de correspondencia:

Correo: sanchezlarale@gmail.com

Palabras clave: nanopartículas de plata, síntesis verde, microbioma oral.

INTRODUCCIÓN: Las nanopartículas de plata (AgNPs) han ganado interés para aplicaciones de comercialización, ya que tienen propiedades considerablemente versátiles. En aplicaciones médicas, muchos informes demuestran sus actividades biológicas, como actividades anticancerígenas, antioxidantes y antimicrobianas¹ incluso a bajas concentraciones. Los materiales con nanopartículas de plata son una opción terapéutica debido a la creciente prevalencia de la resistencia bacteriana a los agentes antimicrobianos.²

La boca alberga la segunda comunidad microbiana más diversa del cuerpo. La abundancia y diversidad de microorganismos en la cavidad oral dependerá de diversos factores, tales como el estado de salud periodontal, la higiene, la aparición de nuevos microorganismos y el desarrollo de resistencia a los antibióticos disponibles; por lo cual es esencial desarrollar nuevos agentes antimicrobianos como alternativa.

OBJETIVO (S): Biosintetizar nanopartículas de plata utilizando extracto de té verde como agente reductor, caracterizar y evaluar su eficacia contra patógenos orales, comparando con el uso de clorhexidina

MATERIALES Y MÉTODOS: Se realizó la síntesis de nanopartículas de plata mediante el extracto acuoso de té verde (*Camellia sinensis*), caracterizando y evaluando su potencial antimicrobiano con bacterias aisladas de pacientes con enfermedad periodontal, mediante la recolección de muestras de fluido crevicular de bolsas periodontales.

Las AgNPs biosintetizadas se caracterizaron mediante espectrofotómetro ultravioleta-visible (UV-Vis). La eficacia antibacteriana se evaluó mediante el método de difusión en agar.

Los datos recopilados para las zonas de inhibición se analizaron estadísticamente utilizando ANOVA de un solo factor seguido de pruebas de comparación múltiple post-hoc de Tukey.

RESULTADOS: Los estudios de caracterización mostraron el cambio de coloración de incoloro a marrón, el espectro UV-vis mostro un pico de 444-447nm, las AgNPs caracterizadas se evaluaron mediante método de difusión en disco obteniendo una zona de inhibición (en mm) frente a *E. faecalis* de 14(±2.64), *S. tigurinus* 11.3(±1), *C. albicans* 21(±1) en comparación con CHX (0.12%) 18.6 (±0.57), 16(±3.05),

19(\pm 2) respectivamente. (Tabla 1). Las bacterias aisladas reportadas en el presente estudio si bien no se encuentran dentro de las principales patógenas causantes de enfermedad periodontal aún se sigue investigando el papel que desempeñan dentro de la misma tal es el caso de *S. tigurinus* que se reporta recientemente como un miembro novedoso del grupo *S. mitis*³ y se a comprobado su alta virulencia en modelos animales experimentales⁴.

Tabla 1. Actividad antimicrobiana de las AgNPs-té verde contra bacterias de cavidad oral.

Muestras	Diámetro halo de inhibición (mm)			
	A. Clorhexidina	B. AgNPs-té verde	C. Té verde	D. AgNO ₃ 0.1mM
<i>S. epidermidis</i>	21.6(\pm 0.57)	13.6(\pm 1)	NP	14.3(\pm 1.15)
<i>S. oralis subsp tigurinus</i> <i>AZ_3a</i>	16(\pm 3.05)	11.3(\pm 1)	NP	10.6(\pm 0.57)
<i>S. oralis</i>	17(\pm 0)	11.6(\pm 0.57)	NP	11.3(\pm 0.57)
<i>L. lactis</i>	17.6(\pm 0)	12(\pm 1.15)	NP	11.3(\pm 1.52)
<i>E. faecalis</i>	18.6 (\pm 0.57)	14(\pm 2.64)	NP	13(\pm 1)
<i>C. albicans</i> <i>ATCC 10231</i>	19(\pm 2)	21(\pm 1)	NP	17.3(\pm 1.1)

CONCLUSIONES: Las AgNPs biosintetizadas mostraron una eficacia antibacteriana similar al uso de clorhexidina, a diferencia de *C. albicans* donde la inhibición fue mayor, por lo que puede considerarse como agente terapéutico alternativo para algunos microorganismos que causan enfermedades orales.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Suwan, T.; Khongkhunthian ,S.; Okonogi, S. Drug Discov Ther. **2018**.12,189-196.
2. Talapko ,J.; Matijevic, T.; Juzbašić, M.; Antolovic -Požgain, A.; Škrlec, I. Microorganisms **2020**.8,1-13.
3. Dhotre, S.; Mehetre, G.; Dharne, M.; Suryawanshi, N.; Nagoba, B. FEMS Microbiol Lett. **2014**. 357,131-5.
4. Veloso, T.; Zbinden, A.; Andreoni, F.; Giddey, M.; Vouillamoz, J.; Moreillon P, Zinkernagel, A.; Entenza, J. Int J Med Microbiol. **2013**. 303, 498-504.

CÁNCER: ¿PODEMOS SER NUESTRA PROPIA CURA?

Miguel Ángel Ramírez Flores, Yael Alain Sánchez Nicolás, Geraldine Cortés Castro, Gabriela Arista Vidal

Palabras clave: Cáncer, tratamiento, inmunoterapia, leucocitos, biotecnología.

INTRODUCCIÓN:

El cáncer es una de las principales patologías asociadas a decesos a nivel global, por lo que los avances biotecnológicos y clínicos son de suma importancia en el tratamiento y potencial solución de este padecimiento. Con bases en los registros e informes de la Organización Panamericana de la Salud, tan solo durante el 2021 se estima que 20 millones de personas fueron diagnosticadas con esta enfermedad, de las cuales la mitad fallecieron; así mismo, esta asociación prevé que los decesos podrían ascender hasta en un 60% en las dos décadas próximas.

Si bien se sabe que al día de hoy existen procedimientos como la “quimio” o radioterapia, estos suelen ser demasiado agresivos para el organismo del paciente, en especial cuando se le ha dado un diagnóstico en etapa avanzada. Es por esto mismo, que se han tenido que dar nuevos enfoques, con el fin de vislumbrar una solución a este paradigma; entre dichas perspectivas, se encuentran los estudios e investigaciones de las células T con receptor antigénico quimérico (T-CAR), una variante de leucocitos (glóbulos blancos inherentes del sistema inmune) modificados genéticamente para hacer frente a las células cancerosas de manera específica, selectiva y poco invasiva, en comparación con los tratamientos previamente mencionados.

Estas modificaciones son producto de alteraciones controladas en el ADN de los leucocitos, a través de la afamada técnica de “crispr cas-9”, un método renovado para la edición de material genético por Jennifer Doudna y Emmanuelle Charpentier, lo que las hizo acreedoras al premio Nobel de Química en el año 2020; este método se basa en la edición genómica de secciones de ADN en células, auxiliándose de la proteína enzimática conocida como “cas-9”, responsable de buscar, identificar y desactivar posibles amenazas como virus, o en este caso, para neutralizar células cancerosas. Con todo esto, se esperarían finalmente glóbulos blancos reforzados para inhabilitar los cúmulos de células cancerosas y probables metástasis.

El proceso de esta variante de inmunoterapia se resume en la extracción de plasma sanguíneo del paciente afectado, para que posteriormente estas muestras sean enviadas a un laboratorio especializado en el cual se dé el proceso de edición genética; luego, los leucocitos fortalecidos se clonan *in vitro*, para finalmente ser añadidos a un suero que será administrado por vía parenteral al paciente. Con esto, se asegura una aplicación de tratamiento menos invasiva y se espera una reducción en los tumores, así como una menor prevalencia o susceptibilidad a “recaídas”, producto de la generación de un sistema inmunitario de memoria.

OBJETIVO (S):

General.

Describir la nueva e innovadora inmunoterapia genética para el tratamiento del cáncer.

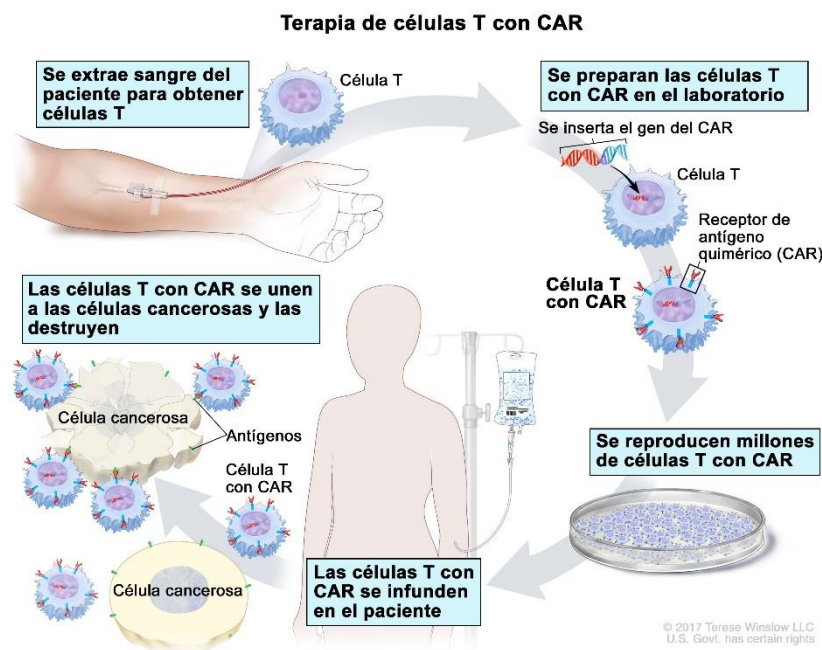
Específicos.

1. Exponer el cáncer como patología y su incidencia en la salud pública global.
2. Describir el proceso de la inmunoterapia por inducción a T-CAR.

MATERIALES Y MÉTODOS:

El método se realiza por recombinaciones genéticas producto de crispr cas-9, posterior a la extracción de muestras plasmáticas del paciente afectado, con lo cual después de la modificación de dichos leucocitos, se reincorporarán al paciente mediante un suero por vía parenteral.

Gráfico 1. Terapia de transferencia de células T



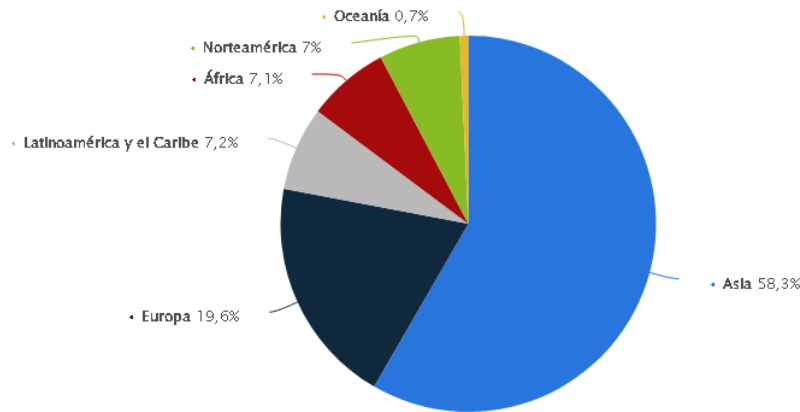
Instituto Nacional del Cáncer. Rescatado de:

<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/terapia-de-celulas-t-con-car>

RESULTADOS:

Actualmente no se han registrado cifras significativas a pesar de que es un tratamiento alternativo y relativamente experimental en pacientes a los cuales no les ha funcionado óptimamente otro tipo de terapias, y en algunos casos de linfoma.

Gráfico 2. Distribución porcentual de muertes por cáncer a nivel global en 2020, por región



Statista Research Department. Rescatado de:

<https://es.statista.com/estadisticas/636267/porcentaje-de-muertes-por-cancer-a-nivel-mundial-por-region/>

CONCLUSIONES:

El cáncer es una de las patologías más difíciles de tratar a nivel mundial, pues factores como el órgano afectado, el grado de daño y la presencia de metástasis o no en el ser vivo, pueden ser clave para la concepción de una posible cura que les de la esperanza de una mejoría en su calidad de vida. La inmunoterapia genética abre un parteaguas a nuevos enfoques, todo con el fin de tratar diversos tipos de cáncer, así como la metástasis que puede producirse en el organismo.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Asociación Americana de Cáncer (s.f.). *Terapia de células CAR-T y sus efectos secundarios*. Rescatado 22/09/22, de: <https://www.cancer.org/es/tratamiento/tratamientos-y-efectos-secundarios/tipos-de-tratamiento/inmunoterapia/terapia-de-celulas-t.html>
2. N.I.H. (s.f.). *Terapia de células T con CAR*. Instituto Nacional del Cáncer. Rescatado 22/09/22, de: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/terapia-de-celulas-t-con-car>
3. Razeghian, E., Nasution, MKM, Rahman, HS et al. *Una visión profunda de la aplicación CRISPR/Cas9 en inmunoterapias tumorales basadas en células CAR-T*. Stem Cell Res Ther 12 , 428 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02510-7>
4. Organización Panamericana de la Salud. (s.f.). *Cáncer en las Américas*. O.M.S. Rescatado 22/09/22, de: <https://www.paho.org/es/campanas/dia-mundial-contra-cancer-2021-yo-soy-voy#:~:text=A%20nivel%20mundial%2C%20se%20estima,las%20personas%20y%20a%20las%20comunidades.>

Ejes Temáticos

Inmunología (INM)

Carteles

ENCEFALITIS AUTOINMUNE POR ANTICUERPOS ANTI-NMDAR

José Francisco Pérez-Barrientos, expositor.

*Autor de correspondencia: José Francisco Pérez-Barrientos

Correo: jperez1804@alumno.ipn.mx

Palabras clave: Autoanticuerpos Anti-NMDAr, síntesis intratecal, encefalitis, psicosis autoinmune.

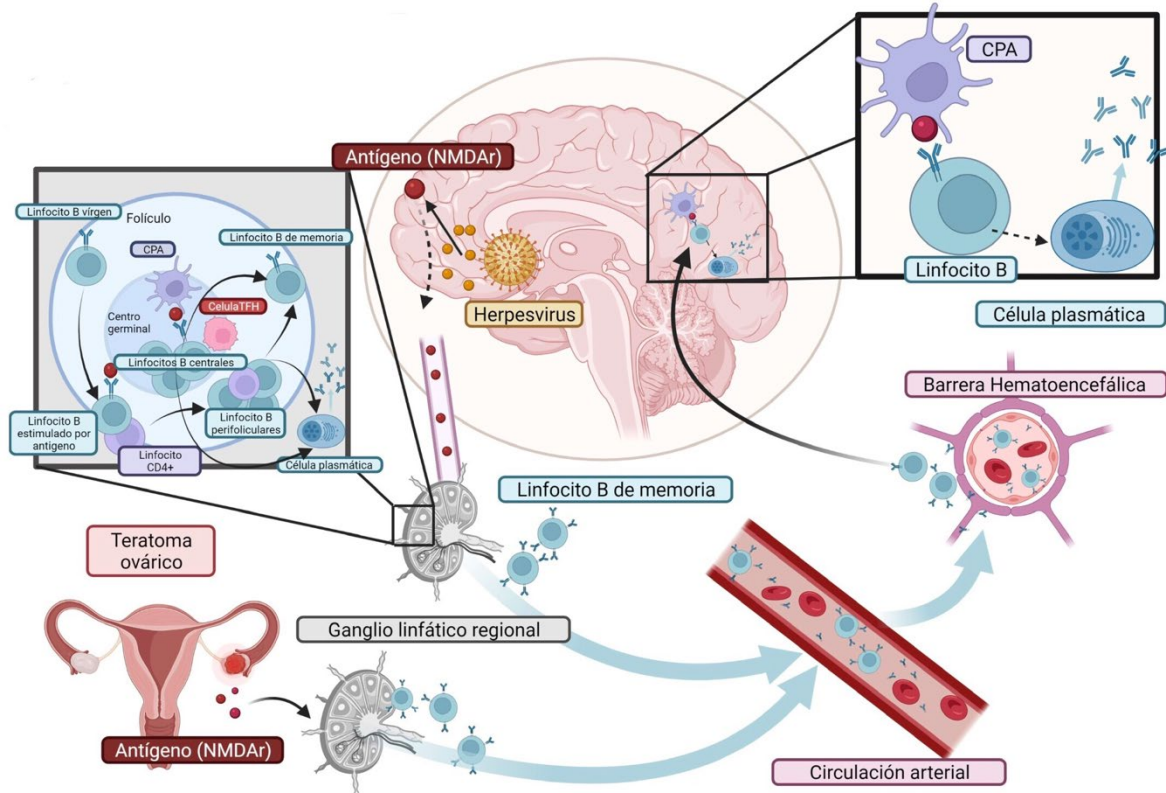
INTRODUCCIÓN: Con el advenimiento de la descripción de encefalitis autoinmune por diferentes anticuerpos anti-NMDAr y que la psicosis puede ser la única manifestación, el término “encefalitis autoinmune” se ha vuelto importante de describir y abordar en la práctica clínica neuropsiquiátrica.

OBJETIVO (S): Describir el papel fisiopatológico de los autoanticuerpos neuronales en las encefalitis de origen no viral y en los trastornos psicóticos agudos. El descubrimiento de la encefalitis autoinmune por autoanticuerpos Anti-NMDAr abre la relación entre autoinmunidad y psicosis.

MATERIALES Y MÉTODOS: Las bibliografías utilizadas para el desarrollo de esta revisión narrativa fueron identificadas a través de búsquedas en PubMed y Google Scholar. Los artículos fueron seleccionados sin un límite de tiempo. Para la búsqueda se utilizaron los siguientes términos claves: *anti-NMDA receptor encephalitis*, *autoimmune psychosis* y *autoimmune encephalitis*; y fue restringida a los idiomas inglés y español. La lista final de los artículos incluidos se obtuvo con base en la relevancia de los temas abordados en esta revisión.

RESULTADOS: Dentro del gran conjunto de las encefalitis autoinmunes, la encefalitis anti-NMDAr tiene la mayor asociación con manifestaciones psiquiátricas. Vitaliani et al. describieron cuatro mujeres que desarrollaron síntomas neuropsiquiátricos agudos asociados a teratoma ovárico y cambios inflamatorios en líquido cefalorraquídeo. Dalmau et al. identificaron la producción de anticuerpos contra el receptor NMDA en 12 pacientes con características clínicas similares. A partir de las asociaciones mencionadas entre los síntomas psicóticos, procesos neoplásicos e inflamatorios, seguido del descubrimiento de la encefalitis anti-NMDAr, se propone la autoinmunidad como el mecanismo fisiopatogénico subyacente de encefalitis en un subgrupo de pacientes con psicosis.

Esquema 1.



CONCLUSIONES:

La encefalitis anti-NMDAR es una patología donde las manifestaciones psiquiátricas destacan. Desde su descubrimiento se ha incrementado su incidencia posicionándose como la primera causa de encefalitis de origen no viral.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Ellul P, Groc L, Tamouza R, Leboyer M. The clinical challenge of autoimmune psychosis: learning from Anti-NMDA receptor autoantibodies. *Front Psychiatry*. 2017;8:1-6. DOI: 10.3389/fpsyt.2017.00054
2. Maat P, de Graaff E, van Beveren NM, Hulsboom E, Verdijk RM, Koorengel K, et al. Psychiatric phenomena as initial manifestation of encephalitis by anti-

NMDAR antibodies. *Acta Neuropsychiatr.* 2013;25(3):128-136. DOI: 10.1111/acn.12013

3. Maneta E, García G. Psychiatric manifestations of anti-NMDA receptor encephalitis : neurobiological underpinnings and differential diagnostic implications. *Psychosomatics.* 2014;55(1):18. DOI: 10.1016/j.psym.2013.06.002
4. Y Herken J, Prüss H. Red flags: Clinical signs for identifying autoimmune encephalitis in psychiatric patients. *Front Psychiatry.* 2017;8:25. DOI: 10.3389/fpsyt.2017.00025
5. Mané-Damas M, Hoffmann C, Zong S, Tan A, Molenaar PC, et al. Autoimmunity in psychotic disorders. Where we stand, challenges and opportunities. *Autoimmun Rev.* 2019;18(9):102348. DOI: 10.1016/j.autrev.2019.102348
6. Vitaliani R, Mason W, Ances B, Zwerdling T, Jiang Z, Dalmau J. Paraneoplastic encephalitis, psychiatric symptoms, and hypoventilation in ovarian teratoma. *Ann Neurol.* 2005;58(4):594604. DOI: 10.1002/ana.20614
7. Dalmau J, Tüzün E, Wu H, Masjuan J, Rossi JE, Voloschin A, et al. Paraneoplastic anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis associated with ovarian teratoma. *Ann Neurol.* 2007;61(1):25-36. DOI: 10.1002/ana.21050
8. Graus F, Titulaer MJ, Balu R, Benseler S, Bien CG, Cellucci T, et al. A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. *Lancet Neurol.* 2016;15(4):391-404. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)00401-9

IMPACTO DE LAS VARIANTES GENÉTICAS DE *IL-1* CON LA ENFERMEDAD DE PARKINSON ESPORÁDICA EN PACIENTES MESTIZOS MEXICANOS

Curriel Pérez Diego¹, Ortega Vázquez Alberto², Adalid Peralta Laura V.³, López -López Marisol², Monroy Jaramillo Nancy¹.

1. Departamento de Sistemas Biológicos, UAM-Xochimilco, 2. Departamento de Genética, INNNMVS.

3. Laboratorio de Neuroinflamación, INNNMVS.

*Autor de correspondencia: Dra. Nancy Monroy Jaramillo

Correo: nancy97@unam.mx

Palabras clave: Enfermedad de Parkinson, Interleucinas, Variantes genéticas.

INTRODUCCIÓN: La enfermedad de Parkinson (EP) es el trastorno del movimiento más frecuente y se asocia con neuroinflamación. En un trabajo previo, se detectaron niveles anormales de interleucinas (IL-10, IL-13a, IL-17) en pacientes mexicanos con EP esporádica. Algunas variantes genéticas podrían relacionarse con la producción de citocinas antiinflamatorias, como IL-10, modulando la respuesta inmune e influir en el desarrollo de EP, debido a que se han encontrado niveles elevados de esta en pacientes

OBJETIVO (S): Determinar las frecuencias alélicas-genotípicas de las variantes IL 10_rs1800896 y rs1800872 en pacientes con EP y controles.

MATERIALES Y MÉTODOS: Todos los participantes firmaron consentimiento informado. El protocolo fue aprobado por Comités de Investigación y de Bioética INNN_38/19. Se incluyeron 88 pacientes con diagnóstico clínico de EP y 36 controles pareados por edad y sexo ($p > 0.05$). La genotipificación de las variantes se realizó por PCR RT a partir de DNA de muestras sanguíneas. Se determinó el equilibrio Hardy-Weinberg en ambos grupos.

RESULTADOS: En este estudio piloto evaluamos las frecuencias de dos variantes de la región promotora de IL-10 en pacientes con EP y controles. La genotipificación de IL-10_rs1800896 y rs1800872 no mostraron diferencias significativas en las frecuencias alélicas genotípicas entre controles y pacientes. En controles, observamos IL-10_rs1800896: $f(T)=0.69$ y $f(C)=0.31$, datos concordantes con lo reportado en NCBI. En los pacientes observamos IL-10_rs1800896: $f(T)=0.74$ y $f(C)=0.26$, $p > 0.05$. La variante IL-10_rs1800872 mostró $f(T)=0.47$ y $f(G)=0.53$ en los controles, las cuales muestran diferencias con las encontradas en bases públicas. En los pacientes encontramos $f(T)=0.42$ y $f(G)=0.58$, $p > 0.05$.

CONCLUSIONES: Las variantes analizadas no mostraron asociación con riesgo de EP en esta muestra. Sin embargo, es necesario el análisis con las variables clínicas de los pacientes y ampliar el tamaño de la muestra. Este estudio aporta información relevante sobre las

BIBLIOGRAFÍA:

1. Bialecka et al. (2007). Interleukin-10 gene polymorphism in Parkinson's disease patients. *Archives of Medical Research*, 38(8), 858–863. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2007.06.006>
2. Rentzos et al. (2009) Circulating interleukin-10 and interleukin-12 in Parkinson's disease. *Acta Neurologica Scandinavica*, 119(5), 332–337. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.2008.01103.x>

Eje Temático

Productos Naturales (PN)

Carteles

EVALUACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO DE PACHIRA AQUATICA SOBRE LAS ENZIMAS ALFA-GLUCOSIDASA Y PTP1B

Fernanda Galaviz Martínez,¹ Beatriz González Hidalgo,² María Teresa Núñez Cardona,³ Martín González Andrade,⁴ Francisco Cortés Benítez,⁵ Jaime Pérez Villanueva,⁵ Olivia Soria Arteché,⁵ Juan Francisco Palacios Espinosa^{5*}

¹Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica, ²Departamentos de Producción Agrícola y Animal, ³El Hombre y su Ambiente, ⁵Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco; ⁴Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

*Autor de correspondencia: jpalacios@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: *Pachira aquatica*, α -glucosidasa, PTP1B, antioxidante, Diabetes.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) se define como un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia como consecuencia de defectos en la secreción y acción de la insulina.¹ Su principal clasificación se define según su origen etiopatológico. La DM tipo I, también conocida como insulino dependiente, afecta a personas jóvenes e individuos que no son capaces de producir insulina de forma endógena. Por otro lado, la DM tipo II (DM II), es una afección común de personas en edad adulta o avanzada, las cuales desarrollaron resistencia a la acción de esta hormona en los tejidos periféricos de su cuerpo.² En la búsqueda de tratamientos, dos de los blancos moleculares con mayor relevancia en los últimos años, son la proteína tirosina fosfatasa 1B (PTP1B) una proteína moduladora de la acción de la insulina, y la enzima α -glucosidasa, que se encarga de hidrolizar carbohidratos para su absorción a nivel intestinal. No obstante, las terapias utilizadas en la actualidad para esta enfermedad no son óptimas, puesto que presentan reacciones adversas como son hipoglucemia, alteraciones gastrointestinales, entre otras.³ Por ello, se busca el desarrollo de nuevos antidiabéticos orales retomando la medicina tradicional como base de nuestra búsqueda.

Pachira aquatica comúnmente conocida como Apompo, pertenece a la familia Bombacaceae. De ésta las semillas y hojas jóvenes pueden ser consumidas o preparadas por maceración en agua para producir un líquido empleado como antídoto para mordeduras de animales venenosos.⁴ En lo que respecta a su uso para el control de DM, se emplea en forma de infusión en diversas partes de la República Mexicana.⁵ Aunque esta planta puede presentar una alternativa para el desarrollo de nuevos agentes hipoglucemiantes la información es escasa y ambigua. Por lo anterior, se propuso la investigación química y biológica de algunos extractos de *P. aquatica*.

OBJETIVO

Realizar un estudio fitoquímico biodirigido de los extractos orgánicos de *Pachira aquatica* empleando el efecto inhibitorio sobre las enzimas α -glucosidasa y PTP1B.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de los extractos orgánicos por maceración exhaustiva. Se utilizaron hojas (PAHM y PAHDM) y corteza (PACM y PACDM) del árbol. Cada parte se colocó en un recipiente limpio y seco, se añadió el solvente (MeOH y DCM-MeOH) hasta cubrir la

materia vegetal. Se dejó reposar por 48 h y se recuperó el solvente, para luego llevar a sequedad en un rotaevaporador. Dicho proceso de maceración se repitió cuatro veces para obtener el mayor rendimiento en cada extracto.

Evaluación del efecto inhibitorio sobre las enzimas α -glucosidasa y PTP1B.

Efecto inhibitorio sobre la actividad de la enzima α -glucosidasa: El ensayo se realizó en una placa de 96 pozos, agregando a una suspensión de α -glucosidasa, los extractos y/o compuestos a diferentes concentraciones. Se añade una solución 3 mM de *p*-nitrofenilglucopiranosido como sustrato, a la mezcla para iniciar la reacción. Esta se incubaba a 37°C durante 30 minutos y se detiene agregando una solución de Na₂CO₃. La actividad de la α -glucosidasa se determina midiendo la liberación de *p*-nitrofenol a partir de pNPG a una longitud de onda de 400 nm. Los resultados se expresan como valores de CI₅₀. El valor de la CI₅₀ es la concentración de inhibidor de la α -glucosidasa para inhibir el 50% de su actividad en las condiciones del ensayo.⁶

Efecto inhibitorio sobre la actividad de la enzima PTP1B: La actividad enzimática se evalúa añadiendo 2mM de pNPP (*p*-nitrofenilfosfato) y PTP1B a diferentes concentraciones en un buffer que contiene 50 mM de citrato (pH 6), 0.1 M de NaCl, 1 mM de EDTA y 1 mM de DTT. Posteriormente, se añaden el o los extractos/compuestos a evaluar para iniciar la reacción, se deja a 37°C por 30 minutos y se detiene la reacción con 1 M de NaOH. La cantidad de *p*-nitrofenol producido se estima midiendo la absorbancia a 405 nm. Los resultados se expresan en valores de CI₅₀.⁷

Evaluación de extractos y compuestos con actividad antioxidante.

Ensayo de decoloración del radical DPPH: Se utilizan 100 μ L de los extractos a concentraciones diferentes (1.9-1000 μ g/mL) con 100 μ L de una solución metanólica de DPPH (0.208M). Esta mezcla se deja reposar durante 20 min en la oscuridad y se lee en un lector ELISA a una longitud de onda de 517 nm. Se utiliza como control positivo Trolox. Para ello se realizó una curva de calibración (1.9-500 μ g/mL). Se determina el porcentaje de atrapamiento con la siguiente ecuación.

$$\% = \frac{Ac - Ap}{Ac} \times 100$$

Donde Ac es la absorbancia del control positivo, Ap es la absorbancia del problema.

RESULTADOS

En la evaluación de los extractos de hoja (PAHM y PAHDM) y corteza (PACM y PACDM) sobre las enzimas α -glucosidasa y PTP1B, los resultados indicaron que los extractos metanólicos (PAHM y PACM), fueron los más activos sobre PTP1B con un porcentaje de inhibición en el intervalo de 70-80% a una concentración de 0.01 mg/mL. En cuanto a la evaluación sobre α -glucosidasa, solo el extracto PACDM presentó una actividad inhibitoria débil (\approx 15%), mientras que los demás fueron inactivos (Figura 1). Esto nos permitió seleccionar a estos extractos para continuar con los procesos de fraccionamiento y aislamiento de los compuestos responsables de la actividad biológica.

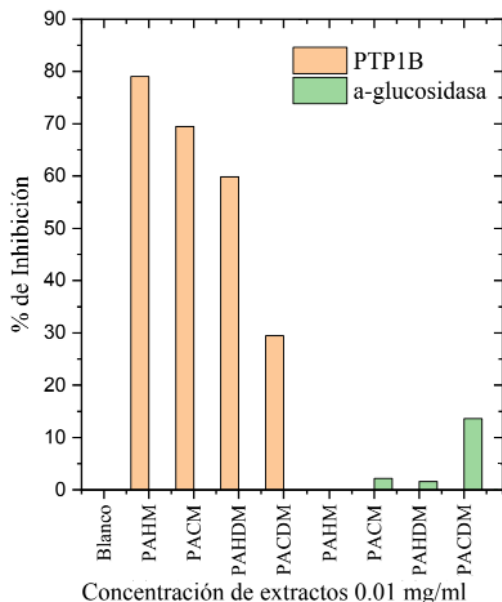


Figura 1. % de inhibición de extractos de hojas y corteza de *P. aquatica* sobre PTP1B.

Por su parte, la evaluación antioxidante de los extractos activos en los ensayos enzimáticos, indicaron una actividad de moderada a pobre, dado que las CI_{50} calculadas en el ensayo de DPPH están en el orden de 100 a 600 $\mu\text{g/mL}$, mientras que el compuesto de referencia (Trolox) presentó una CI_{50} de 12.5 $\mu\text{g/mL}$. No obstante, debemos considerar que se trata de extractos complejos que podrían contener antioxidantes en bajas concentraciones (Tabla 1).

Tabla 1. Ensayo de actividad antioxidante de los extractos metanólicos de hoja y corteza de *P. aquatica* en el ensayo de decoloración de DPPH (CI_{50})

Extracto	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	TEAC
PAHM	331.9	0.0377674
PACM	175.6	0.07138383
PAHDM	625.3	0.02004638
PACDM	1014	0.01236193
Trolox	12.535	1

CONCLUSIONES

Se prepararon los extractos orgánicos de las hojas y la corteza de *P. aquatica*. Su evaluación sobre los blancos enzimáticos α -glucosidasa y PTP1B permitió identificar a dos extractos activos sobre PTP1B, los cuales serán sujetos de estudios fitoquímicos para aislar a los principios activos. La actividad antioxidante es moderada, al menos en el ensayo de prueba. Esto nos da evidencia preliminar para validar su uso del Apombo en el tratamiento de la diabetes y como fuente potencial de compuestos inhibidores de PTP1B.

BIBLIOGRAFÍA

- Pérez, D. I. (2016). [Internet] anmm.org.mx/GMM/2016/s1/GMM_152_2016_S1_050-055.pdf
- Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI). [Internet] <https://www.fesemi.org/sites/default/files/documentos/publicaciones/informacion-diabetes.pdf>
- González, S. A., Ortiz, A. R. (2012). [Internet] <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcf/v43n1/v43n1a10.pdf>
- Ospina, J. A. (2000). [Internet] <https://rngr.net/publications/manual-de-semillas-de-arboles-tropicales/parte-ii/especies-p>.
- Hernandez, G. E., Aguilar, C. A., Aguilar, S. L., Román, R. R., Chavez, M. A., Garcia, V. L., Flores, J. L., Alarcon, F. (2002). [Internet] https://www.researchgate.net/publication/11032309_Studies_on_hypoglycemic_activity_of_Mexican_medicinal_plants
- Sabitha, V., Panneerselvam, K., & Ramachandran, S. (2012). [Internet] *2(1)*, S162–S164. doi:10.1016/s2221-1691(12)60150-6.
- Mandal, S.; Moudgil, M.; Mandal, S. K., (2009) 625 (1-3), 90-100.

ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE *CUPHEA AEQUIPETALA* CAV. (LYTHRACEAE)

Dalia Angélica Castañeda Hernández¹, Beatriz González Hidalgo², Juan Francisco Cortés Benítez³, Olivia Soria Arteché³, Jaime Pérez Villanueva³, Sol Cristians⁴, Juan Francisco Palacios Espinosa^{3*}

¹ Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica, ² Departamento de Producción Agrícola y Animal, ³ Departamento de Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. ⁴ Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.

*Autor de correspondencia: jpalacios@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: *Cuphea aequipetala*, Fitoquímica, Hierba del cáncer

INTRODUCCIÓN

A finales del siglo XX, la OMS valoró la importancia de la medicina tradicional de países con culturas originarias como son China, India y México, en donde amplios sectores de la población hacen uso de ella (1). En nuestro país, la mayor parte del conocimiento tradicional que se tiene acerca de las plantas medicinales proviene desde la época prehispánica (2).

El género *Cuphea* (Lythraceae) incluye unas 250 plantas herbáceas o especies subarborescentes que muestran una variedad de propiedades farmacológicas, como efectos antimicrobianos, antiinflamatorios y antihipertensivos. Se han utilizado algunas especies del género *Cuphea* para el tratamiento de trastornos estomacales, sífilis, gonorrea, cáncer, así como anticonceptivo oral en la medicina tradicional del Sur y Centroamérica (3,4). Se han encontrado estudios en donde además de ácidos grasos, también se reportan para el género la presencia de triterpenos, esteroides, sapogeninas, gluco-alcoholes (manitol, fitoesteroides, betasitosterol, estigmasterol, ergosterol, beta-amirina, ácido betulínico y epifriedelinol). Asimismo, se aislaron compuestos fenólicos, flavonoides, esteroides y glicósidos de *Cuphea aperta* usada en Brasil como antihipertensiva (5).

Cuphea aequipetala Cav. (Hierba del Cáncer) ha sido utilizada en la medicina tradicional mexicana para tratar diferentes tipos de tumores y hematomas. Además, es importante destacar su uso para el tratamiento de dolencias estomacales. En particular, la infusión de las partes aéreas se consume como un té digestivo para aliviar el dolor de estómago y la sensación de ardor, infecciones estomacales, úlceras, diarrea y disentería (6). Sin embargo, aún no hay reportes suficientes de la fitoquímica de esta especie, por tal motivo se propuso realizar el estudio químico de un extracto metanólico.

OBJETIVO

Realizar el estudio fitoquímico de un extracto metanólico preparado de las partes aéreas de *Cuphea aequipetala* Cav. (Lythraceae)

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de Material Vegetal

El material vegetal se colectó en la Reserva Ecológica de la UNAM por el Dr. Sol Cristians Niizawa. Su identificación taxonómica y depósito de herbario, estuvo a cargo de la M en C. Beatriz González Hidalgo de la UAM Xochimilco. Las partes aéreas se limpiaron con agua

y secaron a temperatura ambiente, posteriormente se llevó a cabo su molienda en un molino de cuchillas.

Preparación del extracto metanólico de las partes aéreas de *C. aequipetala* Cav.

El extracto se obtuvo por maceración exhaustiva usando 2.16 Kg del material vegetal y 8.0 L de metanol; se dejó reposar durante 48 h. Después de este tiempo, se separó el líquido y se concentró a presión reducida. Esta operación se repitió por triplicado.

Fraccionamiento primario

Se tomaron 127.2 g del extracto completo, se suspendieron en 1L de una mezcla metanol-agua 70:30. Esta suspensión se extrajo con tres porciones del mismo volumen de acetato de etilo (AcOEt). Las fases orgánicas se juntaron y se les eliminó el disolvente por evaporación al vacío. Se obtuvieron dos fracciones primarias, CAO₁ y CAA₂

Fraccionamientos sucesivos en cromatografía de columna abierta (CCA)

Los fraccionamientos se realizaron por cromatografía en columna abierta de vidrio empacadas con gel de sílice (Macherey-Nagel 60, gránulo de 0.063-0.2 mm). Como sistemas de elución se utilizaron solventes orgánicos puros y mezclas de hexano (Hex), acetato de etilo (AcOEt) y metanol (MeOH).

Análisis por cromatografía en capa fina (CCF)

Para darle seguimiento a los procesos de CCA, se utilizaron cromatofolios de aluminio recubierto con sílica gel 60 F254 20x20 cm (Supelco Sigma-Merck-Aldrich, Alemania). Se eluyeron con distintas fases móviles con los solventes antes mencionados, para su visualización se usó luz UV y agentes reveladores como sulfato cérico amoniacal y vainillina sulfúrica.

Puntos de fusión

Los puntos de fusión reportan sin corregir y se determinaron mediante un aparato de Fisher-Johns

Obtención de los espectros de IR, RMN (¹H y ¹³C) y espectrometría de masas

La Resonancia Magnética Nuclear se realizó utilizando un equipo Agilent DD2 que opera a 600 MHz para el núcleo ¹H y 151 MHz para ¹³C, utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna y cloroformo deuterado (CDCl₃) como disolvente; los espectros fueron procesados con el Software MestReNova y los desplazamientos químicos fueron registrados en ppm (δ). Los espectros de masas de alta resolución fueron registrados en un espectrómetro Bruker ESI/APCI-TOF, MicroTOF-II-Focus (Bruker, Billerica, MA, EE. UU.) por ionización por electrospray

RESULTADOS

Los resultados obtenidos de los procesos de fraccionamientos sucesivos se ilustran en el diagrama uno. De donde se desprende que de la fase orgánica (CAO₁), se aisló un sólido blanco (127.6 mg) con un punto de fusión en el intervalo de 133-136 °C (fracción E-F), que al análisis por CCF y su posterior revelado con vainillina sulfúrica indicaron que se podría tratar de un terpeno. De la fracción P-Q precipitaron de manera espontánea (190.1 mg) de un sólido de color amarillo, que podría tratarse de un compuesto de naturaleza fenólica. De la misma fracción, precipitó un sólido gris (3 mg) con un punto de fusión de 290-297 °C. Por otro parte, de la fracción CAA₂, precipitaron grandes cantidades de manitol (298.2 mg), compuesto que ya ha sido reportado en la literatura para esta especie. De todos ellos se tienen

los experimentos de RMN y espectrometría de masas, cuyo análisis está en proceso para establecer su identidad.

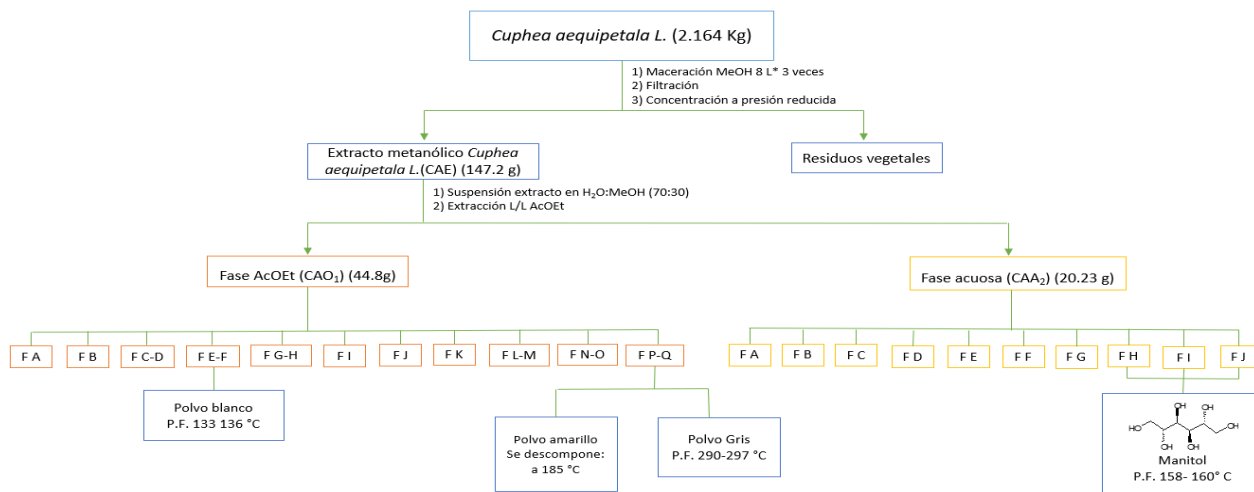


Diagrama 1. Proceso de fraccionamiento sucesivo.

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se realizó el estudio fitoquímico del extracto metanólico de *Cuphea aequipetala*, en donde se lograron aislar cuatro metabolitos secundarios, uno de ellos es el manitol y otros tres que están en proceso de identificación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ávila Uribe MM, García Zárate S, Sepúlveda Barrera AS, Godínez Rodríguez MA. Plantas medicinales en dos poblados del municipio de san martín de las pirámides, Estado de México. Polibotánica. 2016 Jul 15;0(42):215–45.
2. Esquivel Gutiérrez ER, Noriega Cisneros R, Bello González MA, Saavedra Molina A, Salgado Garciglia R. Plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana con propiedades antidiabéticas y antihipertensivas Biological activity of medicinal plants and edible fruits View project [Internet]. Biológicas; 2012 Jul. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/237082244>
3. Morales Serna JA, García Ríos E, Madrigal D, Cárdenas J, Salmón M. Constituents of organic extracts of *Cuphea hyssopifolia* [Internet]. Vol. 55, Journal of the Mexican Chemical Society. 2011. Available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=47521267011>
4. Santos MC, Soares KD, Beltrame BM, Bordignon SAL, Apel MA, Méndez ASL, et al. *Cuphea* spp.: antichemotactic study for a potential anti-inflammatory drug. Nat Prod Res. 2021;35(24):6058–61.
5. Waizel-Bucay J, Martínez-Porcayo G, Villarreal-Ortega ML, Alonso-Cortés D, Pliego-Castañeda A. Estudio preliminar etnobotánico, fitoquímico, de la actividad citotóxica y antimicrobiana de *Cuphea aequipetala* Cav. (Lythraceae). Vol. 15. 2003.
6. Palacios-Espinosa JF, Arroyo-García O, García-Valencia G, Linares E, Bye R, Romero I. Evidence of the anti-*Helicobacter pylori*, gastroprotective and anti-inflammatory activities of *Cuphea aequipetala* infusion. J Ethnopharmacol. 2014 Feb 3;151(2):990–8.

ATRAPAMIENTO POR MICRO O NANOESTRUCTURAS DEL MUCÍLAGO
EXTRAÍDO DE NOPAL (*Opuntia ficus-indica*) PARA LA FORMACIÓN DE
FLÓCULOS COMO ALTERNATIVA Y TRATAMIENTO DE LA OBESIDAD.

Diana Shirley Salazar Hernández¹, Dra. Adriana Cuadros Moreno², IBT. Amelia Romana Jiménez Rodríguez³
Janet Cassandra Muñoz Ortiz⁴, Marcos Osmar Martínez Gama⁵.

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del Instituto Politécnico Nacional.
Contacto: dsalazarh1400@alumno.ipn.mx¹, acuadros@ipn.mx²

Palabras clave: Mucílago de nopal, microestructuras poliméricas, quitosano, obesidad, secado por aspersión.

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo de investigación tiene como finalidad atrapar el mucílago de nopal mediante la formación de micro o nanoestructuras poliméricas.

Según la Secretaría de Salud, la obesidad es una enfermedad crónica que aparece cuando existe un exceso de tejido adiposo (grasa) en el cuerpo. Puede propiciar otras enfermedades como: diabetes, hipertensión, cáncer. Por tanto, es una problemática que genera un deterioro para la salud de la población en México. El mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*) es un polímero lineal que posee características fisicoquímicas y fitoquímicas que le permiten ser una alternativa para el tratamiento y/ o prevención de la obesidad.

Las micro o nano estructuras poliméricas tienen la capacidad de ser utilizados como vectores intracelulares con el objetivo de aumentar la estabilidad, diseño y producción de formulaciones funcionales con alta biodisponibilidad.

El secado por aspersión es método físico, que por medio de condiciones termodinámicas permite la obtención de micro o nanoestructuras. La Microscopía Electrónica de Barrido proporciona imágenes en una amplia gama de aumentos de la muestra cuando un haz de electrones de alta energía se hace incidir en el material, así es posible evaluar la homogeneidad, agregación, estabilidad, el tamaño y la morfología de las partículas.

Con respecto a la actividad terapéutica del mucílago de nopal *Opuntia ficus-indica*, varios autores han realizado investigaciones que comprueban su efecto en modelos in-vitro e in-vivo. Vázquez y Ramírez (2006) estudiaron el efecto del mucílago de nopal como

estabilizador de las membranas plasmáticas de la mucosa gástrica dañada en ratas. Estudios realizados por Osuna y Nat Prod Chem (2014) señalan que el extracto de nopal es rico en compuestos antioxidantes y es eficaz para reducir el colesterol y el LDL-C en ratones hipercolesterolémicos. Otros estudios por Kalegowda et al, (2017) demostraron que el mucílago extraído de cladodios de *Opuntia-dillenii* (Ker-Gawl) tiene una relación con actividades antiulcerosas, actividades antiinflamatorias, citoprotectoras y reductoras del colesterol, así como propiedades antiobesogénicas a través de la inhibición de la lipasa. Corona-Cervantes et al, (2022) reportan que la pectina de la pulpa mostró efectos antihiperlipidémicos, reduciendo la absorción de lípidos y aumentando la excreción de esteroides fecales, alterando así el círculo enterohepático.

OBJETIVOS

Objetivo general

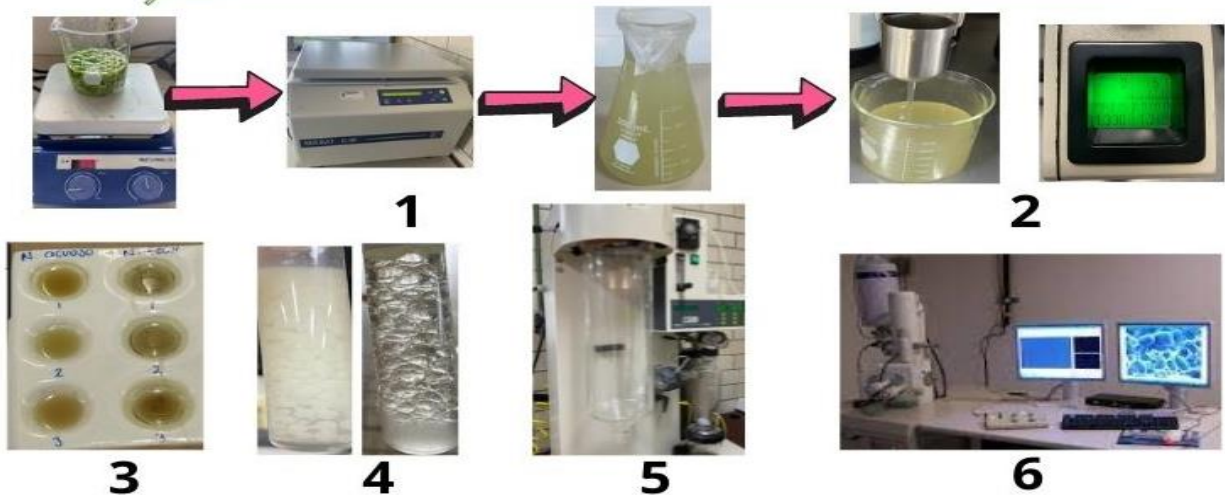
- Atrapar mediante micro o nanoestructuras el mucílago de nopal (*Opuntia ficus- indica*) para la prevención y/o tratamiento de la obesidad.

Objetivos específicos

- Obtener el mucílago de nopal (*Opuntia ficus- indica*), así como la caracterización físicoquímica del mucílago de nopal: viscosidad, densidad, índice de refracción, grados brix y pH.
- Determinar la presencia o ausencia de metabolitos secundarios mediante un preliminar fitoquímico.
- Determinar el porcentaje de interacción del extracto de mucílago acuoso/ fracción etanólica con aceite vegetal y con grasa animal, con la finalidad conocer la viabilidad para la formación de micro o nanoestructuras.
- Formar micro o nanoestructuras por el método de secado por aspersión y caracterizar el tamaño y morfología de las micro o nanopartículas mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).
- Identificar las propiedades del mucílago de nopal (*Opuntia ficus- indica*) que favorecen la formación de flóculos y que a su vez contribuyan al tratamiento de la obesidad en México.

MATERIALES Y MÉTODOS

El siguiente esquema muestra la metodología general de manera escalonada del presente proyecto de investigación.



RESULTADOS

La siguiente tabla representa los resultados significativos obtenidos de la investigación.

Tabla 1. Resultados que corresponden a cada fase de la metodología: Extracción de mucílago de nopal, caracterización fisicoquímica, perfil fitoquímico, pruebas preliminares de interacción del extracto de mucílago acuoso/ fracción etanólica, Formación de microestructuras mediante secado por aspersión y Análisis por SEM.

MÉTODO	ENSAYO	RESULTADO			
Extracción del mucílago de nopal	Rendimiento	2.10% peso seco			
	Caracterización fisicoquímica	Densidad	0.998 g/cm ³ a 20°		
pH		5 a 20°C			
Viscosidad		142 centistokes= 0,141 Pa*s (baja)			
°Brix		1.25			
Índice de refracción		1.335			
Perfil fitoquímico	Taninos	Positivos +			
	Esteroides	Positivos + (xantonas y flavonas)			
	Otros	Negativos - (Esteroides, Alcaloides, Cumarinas, Saponinas, Azúcares reductores y Quinonas)			
Pruebas preliminares de interacción del extracto de mucílago acuoso/ fracción etanólica	Con aceite vegetal		Mucílago acuoso	Fracción etanólica	Fracción etanólica + Propilenglicol
		% Máximo	95%	90%	95%
		% Estabilidad	58%	30%	40%
	Con grasa animal	% Máximo	-	62%	62%
		% Estabilidad	-	50%	55%
Formación de microestructuras mediante secado por aspersión	Rendimiento	3.72g/L			
	% Recuperación	94.28%			
	Productividad	1.69 g sólidos/ h			
	%Capacidad de la carga	80%			
Análisis por SEM	1er. Secado	Características	<ul style="list-style-type: none"> ◦ Esferas amorfas irregulares ◦ Vacíos externos ◦ Colapsadas, aglomerados (Menos sitios activos de unión) 		
		Promedio	5.728(μm)		
	Varianza	0.733			

		Desviación estándar	0.856
	2do Secado	Características	<ul style="list-style-type: none"> ◦ Más Esferas definidas ◦ Esferas irregulares (sin perder su forma esférica)
		Promedio	5.199(μm)
		Varianza	1.261
		Desviación estándar	1.123

Las siguientes figuras muestran evidencia de los resultados obtenidos.

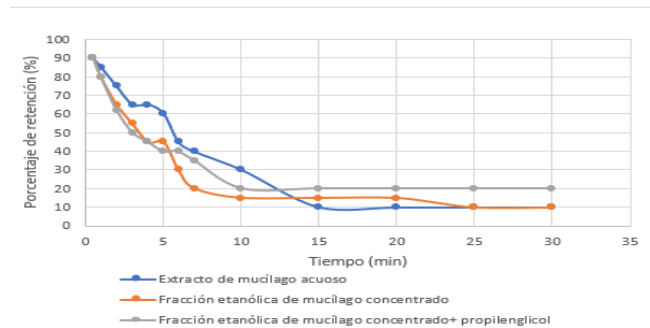


Figura 1. Cinética de interacción de mucílago de nopal + aceite vegetal (4/5mL).

Figura 2. Micrografías en SEM por electrones secundarios del primer secado por aspersión. a)2500X b)5000X a 20 Kv, escala 5 y 10 micras. Condiciones de secado: 8 horas de agitación, con Tween y concentraciones bajas de mucílago de nopal y quitosano.

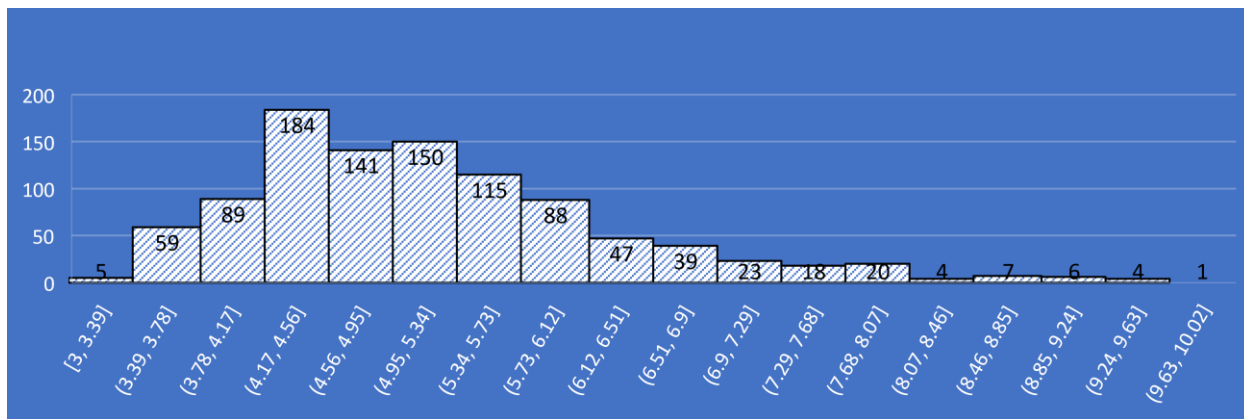
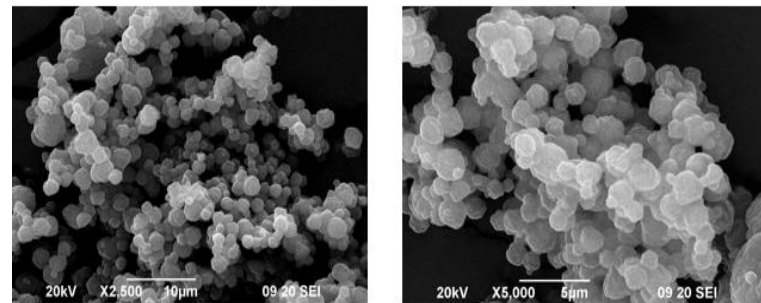


Figura 3. Histograma del diámetro de partícula.

CONCLUSIONES

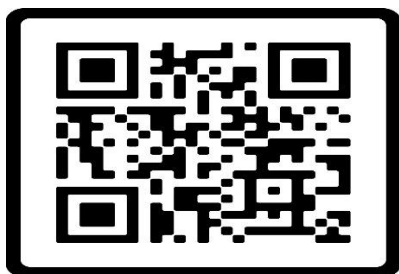
- El mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*) es un fluido viscoelástico, que mediante sus fuertes interacciones moleculares le permite formar redes para retener grandes cantidades de agua. La determinación cualitativa de los metabolitos secundarios se realizó mediante un preliminar fitoquímico, cuyos compuestos fenólicos y flavonoides le confieren al mucílago su actividad antioxidante, antiinflamatoria y antidiabética.
- Las pruebas de interacción del mucílago/ fracción etanólica con grasa animal, pueden mejorar incrementando la agitación vigorosa para observar por más tiempo la estabilidad. También se pueden utilizar otras grasas o medios fisiológicos.
- Se obtuvieron partículas micrométricas, con morfología esférica, la cual le permitirá una difusión adecuada para atravesar la membrana plasmática de las células en la hipodermis y tener un efecto terapéutico.
- Las microesferas tienen la capacidad de formar flóculos con grasa vegetal y animal. Gracias a este preliminar se pueden realizar evaluaciones posteriores in vitro, para determinar la actividad terapéutica de estas.
- Para la obtención de nanopartículas se puede utilizar un nanosecador, cuyas características cambian con respecto al minisecador. También se pueden usar otros métodos de obtención como: liposomas, coacervación, gelificación iónica, etc.
- El mucílago de nopal además de tener actividad terapéutica, también tiene la función de ser un vehículo/material de barrera, para formar microesferas, debido su estructura polimérica y características fisicoquímicas.

BIBLIOGRAFÍA

- Corona-Cervantes, K.; Parra-Carriedo, A.; Hernández-Quiroz, F.; Martínez-Castro, N.; Vélez-Ixta, J.M.; Guajardo-López, D.; García-Mena, J.; Hernández-Guerrero, C. (2022). Physical and Dietary Intervention with *Opuntia ficus-indica* (Nopal) in Women with Obesity Improves Health Condition through Gut Microbiota Adjustment. *Nutrients*. Vol 14, 1008. [https:// doi.org/10.3390/nu14051008](https://doi.org/10.3390/nu14051008)
- Cuadros M. (2014). Efecto hipoglucemiante de extractos de guarumbo (*Cecropia obtusifolia* Bertol) y de lagrima de San Pedro (*Tournefortia hirsutissima*) nanoencapsulados en diabetes tipo 2. Centro de Investigación en Ciencia Aplicada Y Tecnología Avanzada del IPN. México.
- Kalegowda, P., Chauhan, A. S., Mysore, S., & Urs, N. (2017). *Opuntia dillenii* (Ker-Gawl) Haw cladode mucilage : Physico-chemical, rheological and functional behavior. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1057–1064.
- Organización Mundial de la Salud. (2013). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023.
- Osuna-Martínez, U., Reyes-Esparza, J., & Rodríguez-Fragoso, L. (2014). Cactus (*Opuntia ficus-indica*): A Review on its Antioxidants Properties and Potential Pharmacological Use in Chronic Diseases. *Natural Products Chemistry. Res.*
- Vázquez-Ramírez, R., Olguín-Martínez, M. y HernándezMuñoz, R. (2006). Reversing gastric mucosal alterations during ethenol-induced chronic gastritis in rats by oral administration of *Opuntia ficus-indica* mucilage. *World Journal Gastroenterol*, 12: 4318-4324.

BIBLIOGRAFÍA DEL TRABAJO EXTENSO:

Consultar el siguiente QR.



Ejes Temáticos

Química Analítica (QA)

Carteles

VALIDACIÓN DE MÉTODO VOLUMÉTRICO Y ESPECTROFOTOMÉTRICO ULTRAVIOLETA VISIBLE PARA CUANTIFICAR ÁCIDO ACETILSALICÍLICO

Carlos Eduardo Bulnes Chávez, Andrea Alvarado Galicia, Norma Jimena Gonzáles Rentería, Darinke Ayelen Chassin Muñoz, Docentes: Dr. Karina Sánchez Herrera, Dr. Juan Manuel Martínez Núñez, Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco.*

**Autor de correspondencia: Correo: 2202031929@alumnos.xoc.uam.mx*

Palabras clave: Validación, cuantificación, volumetría, espectrofotometría.

INTRODUCCIÓN: El ácido acetilsalicílico (AAS) conocido popularmente como aspirina, es uno de los medicamentos más utilizados a nivel mundial por su eficacia para tratar el dolor (analgésico), la fiebre (antipirético) y la inflamación (antiinflamatorio), esto debido a su efecto inhibitorio, no selectivo, de la ciclooxigenasa. El uso tan común de este medicamento demuestra la gran necesidad de comprobar y evaluar los métodos analíticos existentes. En la actualidad existen múltiples maneras de cuantificar al AAS, sin embargo, el siguiente proyecto de investigación modular se enfoca en 2 metodologías que resultan con frecuencia útiles: método volumétrico y el método de espectro Uv-vis.

OBJETIVO: Comparar la validación de dos métodos analíticos para determinar la calidad del ácido acetilsalicílico por cuantificación utilizando espectroscopía Uv-Vis y volumetría, de acuerdo con cuatro parámetros; linealidad, reproducibilidad, precisión y exactitud base.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se utilizó material y reactivos del laboratorio G-202, se utilizó el Ácido acetyl salicílico como materia prima para la elaboración de tabletas del laboratorio G-102.

Para el análisis espectrofotométrico se utilizó el espectrofotómetro UV/Vis Lambda15t Perkin Elmer.

Método Espectrofotométrico. Se utilizaron 0.4 gramos de AAS, se realizaron dos stocks del principio activo en agua, se tomaron 5 alícuotas del segundo stock (1, 2, 3, 4, y 5 mL) y se llevaron a un aforo de 10 mL en matraces volumétricos, se leyó cada matraz en el espectrofotómetro a 275nm.

Se repitió el procedimiento por triplicado, se realizó el análisis para dos analistas, en dos días diferentes.

Método Volumétrico. Se realizó una curva de calibración de ácido acetilsalicílico de 5 puntos para titular por retroceso para obtener la concentración real del fármaco. El procedimiento se llevó a cabo por triplicado, se realizó el análisis para dos analistas, en dos días diferentes.

El análisis de varianza se realiza de acuerdo con la guía de validación del colegio de QFB's. (5)

RESULTADOS:

De los datos obtenidos por espectrofotometría Uv-Vis, se realizaron los cálculos para determinar la linealidad, precisión, exactitud y reproducibilidad del método, los cuales se muestran en la tabla 1 y 2.

ANALISTA				$R^2=0.999$	
	1	2			
1	100.358	99.48			
	100.12	100.39	promedio total R	100.179	
	100.842	100.16	desviación estándar	0.34383329	
2	100.072	100.12	CV	0.34321779	
	99.822	99.97			
	100.408	100.41			

Tabla 2. Cálculos del sistema.

Tabla 1. Porcentajes de recobro

Fuente de variación	grados de libertad	suma de cuadrados	media de cuadrados	Fcal	F0.05*
analista	gla=1	0.099372	0.099372	0.94848969	38.51
día	gld=2	0.20953733	0.10476867	0.84531308	6.06
error	gle= 8	0.99152533	0.12394067	-----	-----

Tabla 2. ANADEV

Con los datos anteriores podemos decir que el método de cuantificación del ácido acético por espectrofotometría UV-Vis, es lineal ($R^2= 0.999$), preciso ($CV= 0.3432\%$, $DE= 0.3438$), reproducible ($Fa < F0.05$, $Fd < F0.05$) y exacto ($CV=0.3432\%$, Promedio de recobro = 100.179%), ya que todos los rubros entran dentro de los rangos de aceptación.

De los datos obtenidos por titulación volumétrica, se realizaron los cálculos para determinar la linealidad, precisión, exactitud y reproducibilidad del método, los cuales se muestran en la tabla 3 y 4.

Exactitud y repetibilidad al 100%				$R^2 = 0.999$	
ANALISTA					
	1	2			
1	98.027	96.479			
	96.222	97.752	promedio total R	96.758	

	96.929	97.412	desviación estándar	0.81510651	
	95.174	96.973	CV	0.84242132	
2	97.303	96.04	intervalo de confianza	97.2754808	96.2396859
	96.037	96.743	Tabla 2. Cálculos del sistema.		
	96.61533333	96.89983333			

Tabla 3. Porcentajes de recobro

Fuente de variación	grados de libertad	suma de cuadrados	media de cuadrados	Fcal	F0.05*
analista	gla=1	0.24282075	0.24282075	0.27340407	38.51
dia	gld=2	1.7762775	0.88813875	1.34330212	6.06
error	gle= 8	5.289286667	0.661160833	-----	-----

Tabla 4. ANADEV

Con los datos anteriores podemos decir que el método de cuantificación del ácido acetil salicílico es lineal ($R^2 = 0.999$), preciso ($CV = 0.8424\%$, $DE = 0.8151$) y reproducible ($F_a < F_{0.05}$, $F_d < F_{0.05}$), pero los resultados nos indican que no es exacto, ya que uno de los rubros ($IC = 97.27/96.23$) no entra dentro de los rangos de aceptación, no se considera validado.

CONCLUSIONES: De acuerdo con los resultados obtenidos por ambas metodologías se concluye que el método analítico que cumplió los parámetros determinados de linealidad, exactitud, precisión y reproducibilidad para cuantificar AAS fue por espectrofotometría Uv-Vis.

BIBLIOGRAFÍA:

- 1.- Donamaria, C, Grigera R. Aspirina: Estructura y Acción Farmacológica. 1st ed. Acta Farm. Bonaerense. La Plata, Argentina.: Instituto de Física de Líquidos y Sistemas Biológicos; 2001. p. 310-311.
- 2.- González, G, Quezada, N. & Celinda, M., s.f. Detección espectrofotométrica y cuantificación de ácido acetil salicílico en fármacos. [En línea] Available at: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7028336> [Último acceso: 20 05 2022]
- 3.- 2016. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Ciudad de México: secretaria de Salud, Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.
- 4.- 1. ABC de la valoración. Mettler-Toledo AG, Analytical [Internet]. 2013 [cited 28 September 2022];:16-18. Available from: https://www.mt.com/dam/Analytical/EasyPlus/pdf/Guide_ABC_of%20Easy_Titration_ES_low-res.pdf
- 5.- NMX-CH-152-IMNC. Metrología en Química-Vocabulario, 2005.
- 6.- Guía de validación de métodos analíticos. 1st ed. Ciudad de México.: Dirección general de control de insumos para la salud.; 2022.

VALIDACIÓN DE MÉTODOS VOLUMÉTRICOS Y ESPECTROFOTOMÉTRICOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE IBUPROFENO COMO MATERIA PRIMA PARA LA PRODUCCIÓN DE MEDICAMENTOS.

Álvaro Rocha Neri, Ángel Enrique Hernández Guerrero, Daniela Reyna González, Johanna Martínez Ocampo, Docentes: Sánchez Herrera Karina, Martínez Núñez Juan Manuel.

Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco. División de Ciencias Biológicas y de la Salud.

Autor de correspondencia: Johanna Martínez Ocampo. Correo: 2203058022@alumnos.xoc.uam.mx

Palabras clave: Espectrofotometría, Ibuprofeno, UV-vis Validación, Volumetría.

INTRODUCCIÓN:

La inflamación es una respuesta innata del sistema inmunológico desencadenada a través de infecciones causadas por agentes patógenos (virus, bacterias u hongos) y/o lesiones físicas (Gilman, 2007). Para la respuesta inflamatoria existen fármacos que tienen ciertas propiedades antiinflamatorias, entre ellos se encuentran los antiinflamatorios no esteroideos (AINE), por ejemplo, ibuprofeno, el cual es importante que sea un fármaco de calidad debido a que son de los medicamentos más prescritos y usados en la actualidad debido a su venta libre. Según el INEGI (2018), México ocupa el 3er lugar entre los países de Latinoamérica que más consume ibuprofeno.

La validación de un método analítico es el proceso por el cual se establece mediante pruebas de laboratorio que las características de desempeño del método cumplan con los requisitos para las aplicaciones previstas basándose en evidencia objetiva, por lo tanto, con ello podemos comprobar aspectos de comportamiento del método y establecer que sirva para el propósito indicado. Así mismo, las características a tomar en cuenta al momento de validar un método de acuerdo con la FEUM se consideran 12 parámetros, de los cuales solo se consideraron la precisión del método, linealidad del método y exactitud del método, durante el desarrollo de este trabajo de investigación.

Cabe mencionar que tanto el método de Volumétrico y Espectrofotométrico UV-Vis utilizados a lo largo de esta investigación no están incluidos en la monografía del ibuprofeno contenida en la FEUM como métodos generales de análisis dictados, sin embargo, con ayuda de otras referencias bibliográficas se pudo llevar a cabo la experimentación espectrofotométrica y volumétrica para su respectiva validación.

OBJETIVO:

Determinar la calidad de ibuprofeno como materia prima en la producción de medicamentos a través de la validación de métodos volumétricos y espectrofotométricos UV-Vis.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Durante la experimentación se utilizó material y reactivos del laboratorio G-202, además se utilizó ibuprofeno como materia prima para la elaboración de tabletas del laboratorio G-102.

Validación por espectrofotometría:

Se pesaron y disolvieron 50 mg de ibuprofeno en un matraz volumétrico de 50 mL con etanol, determinado como “stock” del cual se tomaron alícuotas de 1, 2, 3, 4 y 5 mL y se llevaron al aforo en otro matraz volumétrico de 10 mL, esto se leyó en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 264 nm, para su respectivo análisis. El equipo espectrofotométrico que se utilizó fue un espectrofotómetro UV-Vis Lambdax15t Perkin Elmer.

El procedimiento lo realizaron dos analistas, en dos días diferentes por triplicado.

Validación por Volumetría.

Se realizaron dos disoluciones de ibuprofeno para cada uno de los dos días en un matraz volumétrico de 250 mL. Se prepararon y normalizaron el mismo día que se usaron 2 disoluciones de NaOH para cada uno de los dos días de análisis.

Valoración de ibuprofeno con NaOH.

De la disolución “stock” de ibuprofeno-etanol se tomó una alícuota de 1, 2, 3, 4 y 5 mL respectivamente, posterior a ello cada alícuota se agregó a un matraz Erlenmeyer de 250 mL al cual también se les agregó una mezcla de etanol-agua 1:1 c.b.p. su agitación y se añadieron 3 gotas de fenolftaleína (indicador), finalmente, se tituló con la solución de NaOH valorada previamente, y se tomó nota del volumen de punto final de cada valoración.

Al igual que la espectrofotometría, el procedimiento fue realizado por dos analistas, en dos días diferentes por triplicado.

RESULTADOS:

Espectrofotometría

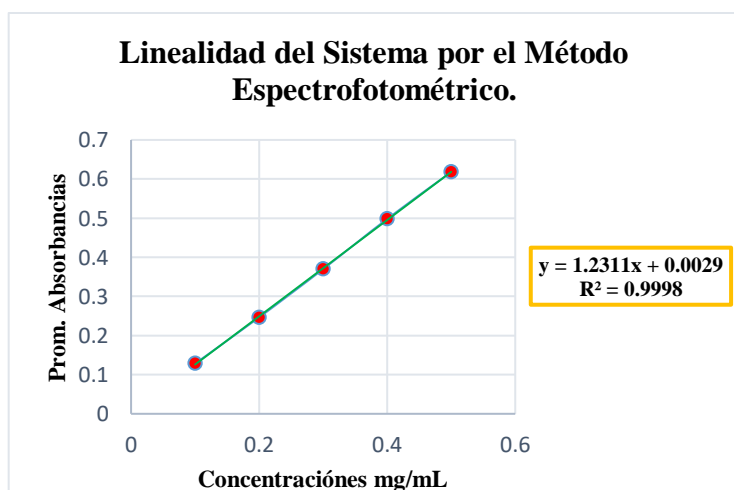


Figura 1: Linealidad del sistema por el método espectrofotométrico

Volumetría

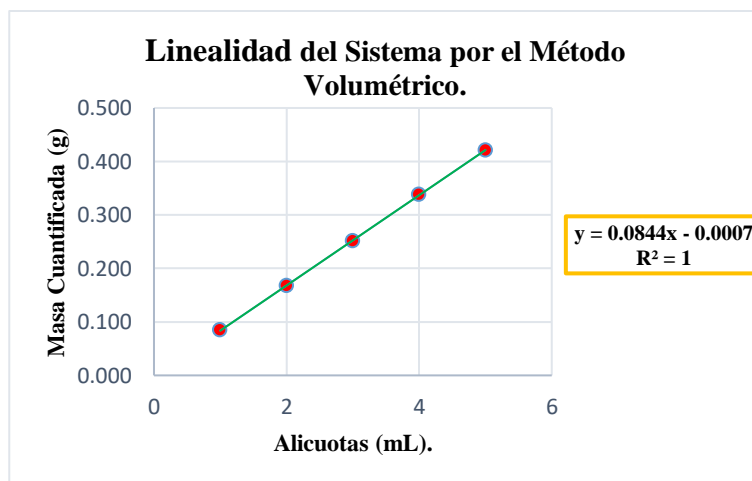


Figura 2: Linealidad del sistema por el método volumétrico

De acuerdo con los resultados obtenidos se determinó el porcentaje de pureza de ibuprofeno, de acuerdo con la espectrofotometría la pureza de la materia prima fue del 99.96%, mientras que la pureza a través del método volumétrico fue de 101.62%.

CONCLUSIÓN:

El método analítico espectrofotométrico cumple con los parámetros de validación especificados en el proyecto, tales como: linealidad, precisión, exactitud y reproducibilidad, por lo que es un método confiable de cuantificación para el ibuprofeno como materia prima. En cuanto al método volumétrico se determina que no está validado debido a que no cumplió con el parámetro de exactitud.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos A. C. (2002). “Guía de validación de métodos analíticos” México.
2. Divins, M.-J. (2014) “Antiinflamatorios,” *Farmacia Profesional*, 28(5), pp. 19–22. Available at: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-antiinflamatorios-X0213932414516582> (Accessed: November 29, 2021).
3. Prieto, J.M., (2007). “Antiinflamatorios No Esteroides (AINE’s),” *Cient. dent*, 4(3), pp. 203–212. [En línea] Available at: https://www.academia.edu/download/49673627/3_aines_donde_estamos_y_hacia_donde_nos_dirigimos.pdf (Accessed: November 29, 2021).
4. Regueiro González, et. al., 2010. *Inmunología: Biología y patología del sistema inmunitario*. Cuarta ed. Buenos Aires, Argentina: Panamericana.
5. Serra, H.A., Roganovich, J.M. and Rizzo, L.F.L., 2012. “Glucocorticoides: paradigma de medicina traslacional de lo molecular al uso clínico.” [En línea] Available at: <https://www.medicinabuenosaires.com/P MID/22522860.pdf>
6. SSA, 2021. *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM)*. 13 ed. Mexico: CPFEUM.
7. INEGI, 2018. [Archivo PDF]: *Ibuprofeno, Paracetamol o aspirina “El mercado de los analgésicos.* [En Línea]. Available at: chrome extensi3n://oemmndcblldboiebfnladdacbfmadadm/http://www.iqvia.com/-/media/iqvia/pdfs/Argentina/el-mercado-de-los-analgésicos_finalcorregido.pdf [Último acceso]: 14 agosto 2022
8. López Tricas, J. M. L. T. (2019, 3 junio). *Ibuprofeno - info-farmacia*. Info-Farmacia.com. Recuperado 16 de agosto de 2022, de <http://www.info-farmacia.com/medico-farmacéuticos/informes-tecnicos/ibuprofeno>

Eje Temático

Química Orgánica y Farmacéutica (QOF)

Carteles

ESTUDIOS DE CRIBADO VIRTUAL POR ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE INHIBIDORES DE LA PROTEÍNA TIROSINA FOSFATASA 1B (PTP1B)

Reyna Del Carmen Navarrete Mondragón¹, Jessica Elena Mendieta Wejebe², Juan Francisco Cortés Benítez³, Olivia Soria Arteche³, Jaime Pérez Villanueva^{3,*}

¹Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México 04960, México.

²Laboratorio de Biofísica y Biocatálisis, Sección de Estudios de Posgrado e Investigación, Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional, Plan de San Luis y Salvador Díaz Mirón s/n, Casco de Santo Tomás, Miguel Hidalgo, Ciudad de México 11340, México.

³Departamento de Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Ciudad de México 04960, México.

*Autor de correspondencia: Jaime Pérez Villanueva
Correo: jpvillanueva@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Acoplamiento molecular, diabetes, cribado virtual, y PTP1B.

INTRODUCCIÓN

Cada año aumentan los casos de pacientes con enfermedades crónicas; específicamente, las relacionadas con malos hábitos alimenticios y falta de ejercicio, como la diabetes.¹ Existe una relación peligrosa entre esta enfermedad y la obesidad, puesto que se generan diversas complicaciones metabólicas que conllevan a un círculo vicioso con algunas consecuencias que aumentan exponencialmente.² Existen varias estrategias para identificar nuevos fármacos para dicha enfermedad, una de ellas es el reposicionamiento de fármacos.³ En este proyecto se trabajó con la diana terapéutica llamada: proteína tirosina fosfatasa 1B (PTP1B, es la principal enzima involucrada en la desensibilización del receptor de insulina y se ha convertido en un objetivo farmacológico para el tratamiento de la DT2 y su comorbilidad asociada que es la obesidad.

OBJETIVO

Identificar nuevos compuestos como potenciales inhibidores de la PTP1B mediante cribado virtual por acoplamiento molecular.

MATERIALES Y MÉTODOS

Bases de datos: Se construyó una quimioteca virtual empleando la base de datos ChEMBL, que incluye fármacos aprobados o en desarrollo y otros compuestos estudiados previamente contra otras dianas relacionadas con diabetes. Después se llevó a cabo un refinamiento de las estructuras para dar 1075 compuestos para ser evaluados por acoplamiento molecular empleando el programa DataWarrior.⁴ El siguiente paso fue la preparación de los ligandos, para esto se optimizó su geometría por mecánica molecular empleando el campo de fuerza MMFF94 implementado en el *software* DataWarrior.

Preparación de la proteína: Se obtuvieron dos estructuras tridimensionales de la proteína PTP1B del *Protein Data Bank* con códigos 1C83 (resolución 1.80 Å) y 1T49 (resolución 1.90 Å). La proteína 1C83 está cocristalizada con un inhibidor sobre el sitio catalítico, mientras que, 1T49 está cocristalizada con un ligando sobre un sitio alostérico. A las proteínas se les retiraron las moléculas de agua y se minimizaron empleando el campo de fuerza Yamber implementado en el servidor en línea de Yasara.

Acoplamiento molecular: La proteína sin ligandos y los compuestos minimizados se cargaron el *software* Yasara para llevar a cabo el acoplamiento molecular sobre las coordenadas del sitio catalítico para 1C83 (1C83 $x=43.747$, $y=16.206$, $z=8.853$) y alostérico 1T49 ($x=51.422$, $y=28.523$, $z=22.782$) respectivamente. Los cálculos se llevaron a cabo empleando la interfase de AutoDock Vina y AutoDock 4.2, utilizando el algoritmo genético Lamarckiano con 100 corridas, 100 poblaciones y 10 000 000 de evaluaciones. Por otro lado, los ligandos con mejor acoplamiento se sometieron a un tercer cálculo empleando el *Software* Gold.

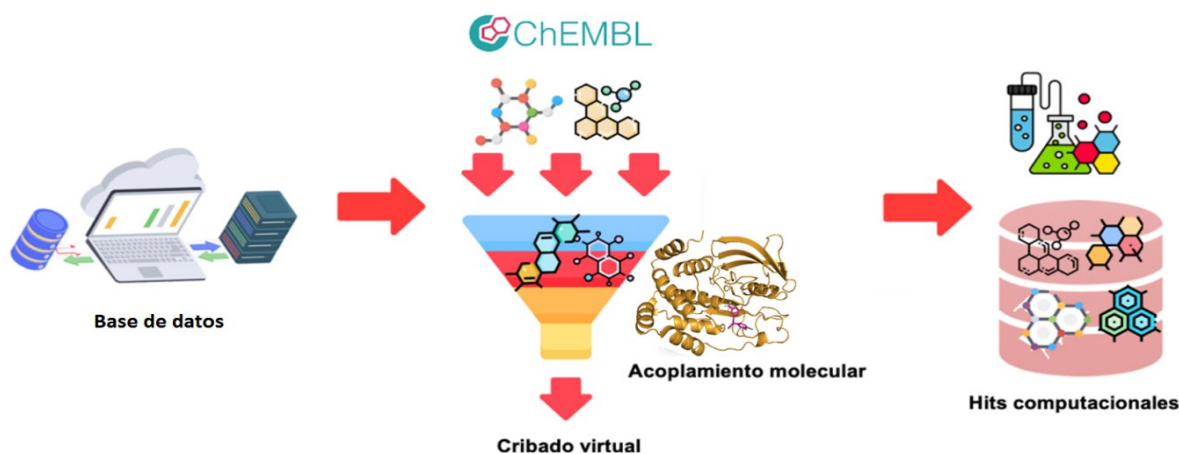


Figura 1. Metodología de cribado virtual por acoplamiento molecular.

RESULTADOS

Validación del modelo: los ligandos cocristalizados fueron acoplados sobre las proteínas 1C83 y 1T49 empleando los tres programas (AutoDock Vina y AutoDock 4.2 y Gold) y comparados con la posición original del ligando en el archivo *.pdb empleando la raíz de la desviación cuadrática media (RMSD). Los valores de RMSD deber ser menores a 2 para que el método se considere validado (Tabla 1); esto significa que el acoplamiento molecular es capaz de reproducir el modo de unión del ligando en su estructura cristalográfica.

Tabla 1. Validación del método de acoplamiento molecular

Proteína	Programa	Valor RMSD
1c83	AutoDock 4.2	0.0
	AutoDock VINA	0.74
	GOLD	0.77
1t49	AutoDock 4.2	0.79
	AutoDock VINA	0.66
	GOLD	1.06

Posteriormente se continuó con el cribado masivo de la quimioteca de 1075 compuestos empleando el programa Autodock Vina. Se seleccionaron los mejores compuestos y se llevaron a una nueva evaluación de acoplamiento sobre los programas AutoDock 4.2 y GOLD. Las distintas energías de unión o calificación de docking obtenidas para los 268 compuestos con los tres distintos programas se normalizó en escala de 0 a 1 y se seleccionaron los 50 compuestos que mostraron los mejores acoplamientos con los tres programas (hits computacionales consenso). En la Figura 2 se muestran las estructuras de algunos compuestos representativos con mejor afinidad calculada por el sitio catalítico de la PTP1B. Finalmente, queda pendiente la evaluación experimental in vitro sobre la enzima.

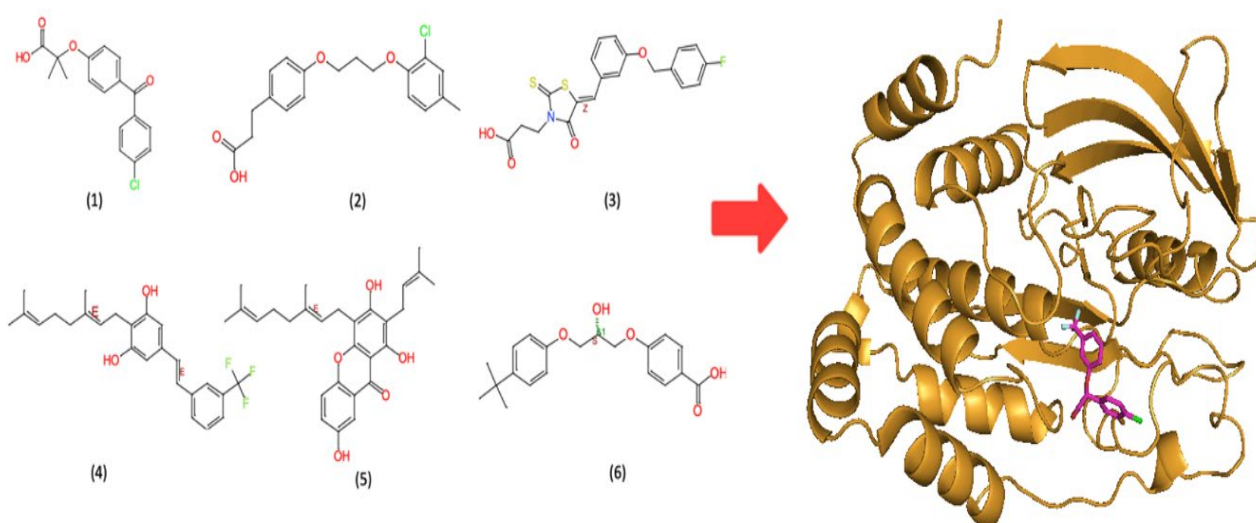


Figura 2. Hits computacionales obtenidos por cribado virtual para PTP1B.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron 50 compuestos con potencial como inhibidores de la proteína PTP1B, los cuales se perfilan para tener efecto antidiabético por medio de la inhibición de esta enzima. Dentro de los compuestos estudiados se encuentran diversos fármacos comerciales y en desarrollo, lo que podrá llevar a encontrarles una nueva aplicación en el tratamiento de la diabetes. Además, otros compuestos incluidos en la base de datos que tienen actividad sobre otras dianas relacionadas con diabetes podrán desarrollarse como moléculas con polifarmacología, lo cual puede ser una ventaja en la búsqueda de un tratamiento más eficaz.

BIBLIOGRAFÍA

1. C M. American Diabetes Association Standards or Medical Care in Diabetes (2020). Riddle, M.; editor January 2020. 224 p.
2. Pushpakom, S.; Iorio, F.; Eyers, P.A.; Escott, K.J.; Hopper, S.; Wells, A. et al. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2019**, *18*, 41-58.
3. Ashburn, T.T.; Thor, K.B. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2004**, *3*, 673-83.
4. Sander, T.; Freyss, J.; von Korff, M.; Rufener, C. *J. Chem. Inf. Model.* **2015**, *55*, 460-73.

SÍNTESIS DE CALIXARENOS CON NÚCLEO DE TIOFENO CON POTENCIAL ACTIVIDAD

ANTIINFLAMATORIA Y ANTICANCERÍGENA

Mejía-Covarrubias, Erick A.; Pérez-Montiel, Erick; Arias Lucina; Pérez-González, Cuauhtémoc; Méndez-Cuesta, Carlos A.

Correo: cmendezc@correo.xov.uam.mx

Palabras clave: Calixarenos, tiofeno, síntesis

INTRODUCCIÓN:

Los calixarenos son una familia de compuestos macrocíclicos con un número variable de unidades, formadas por la condensación de pirrol con diversos aldehídos, generalmente en presencia de algún ácido de Lewis. El número de unidades de aromáticos puede estar entre las 4 y 20 unidades. Los calix[n]arenos son similares a la de otros macrociclos polihidroxilados, ya que la cavidad del macrociclo dependerá del número de unidades aromáticas en el sistema. Estos compuestos tienen una cavidad tridimensional que puede acomodar diversas moléculas durante un proceso llamado complejación. Estos sistemas tienen una ventaja como receptor sintético, debido a las diferentes formas isoméricas conformacionales que adquieren, lo que les permite tener diferentes usos y aplicaciones. Por ejemplo, los calix[4]arenos pueden adoptar varias conformaciones diferentes, incluido el cono, el cono parcial, 1,2-alternativo y 1,3- alternativo.

La importancia de los calix[n]arenos radica en el hecho de que son capaces de reconocer y acomodar en su cavidad moléculas huésped a través de interacciones no covalentes. Algunas de estas interacciones son enlaces por puente de hidrógeno, interacciones de catión, anión, etc. La magnitud de la interacción también depende de la conformación del macrociclo.

OBJETIVO (S):

Sintetizar y evaluar la actividad biológica de los macrociclos con tiofeno

-Caracterizar estos derivados por métodos espectroscópicos y espectrométricos.

-Realizar estudios de acoplamiento molecular con los derivados de tiofeno para predecir los sitios de unión a diversos blancos terapéuticos.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Para la preparación de las diferentes porfirinas que se empleó la metodología diseñada por Adler-Longo. El seguimiento de las reacciones y el análisis de la pureza de los productos obtenidos se realiza mediante la técnica de cromatografía en capa fina (CCF) empleando placas de vidrio recubiertas con gel de sílice. La visualización de los productos se hace con ayuda de luz ultravioleta.

RESULTADOS:

Se sintetizaron 6 derivados de calixarenos, haciendo reaccionar tiofeno con diferentes aldehídos y cetonas para obtener porfirinas con diversos sustituyentes. Se lograron obtener los compuestos propuestos con un nivel de pureza alto. Todos los compuestos se caracterizaron por medio de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C , con la finalidad de ser evaluados *in vitro* sobre diversas líneas celulares, así como determinar su actividad antiinflamatoria.

BIBLIOGRAFÍA:

- Español, E. S., & Villamil, M. M. (2019). Calixarenes: Generalities and their role in improving the solubility, biocompatibility, stability, bioavailability, detection, and transport of biomolecules. *Biomolecules*, 9(3), 90. <https://doi.org/10.3390/biom9030090>
- Gutsche, C. D., & Levine, J. A. (1982). Calixarenes. 6. Synthesis of a functionalizable calix[4]arene in a conformationally rigid cone conformation. *Journal of the American Chemical Society*, 104(9), 2652–2653. <https://doi.org/10.1021/ja00373a060>
- Kumar, S., Paul, D., & Singh, H. (2007). Syntheses, Structures and Interactions of Heterocalixarenes. *ChemInform*, 38(5). <https://doi.org/10.1002/chin.200705232>
- Calixarenes containing modified meso bridges. (2014). *ARKIVOC*, 2015(1), 29. <https://doi.org/10.3998/ark.5550190.p008.753>

SÍNTESIS DE DERIVADOS DE 3-FENIL-1H-INDAZOL CON POTENCIAL ACTIVIDAD CANDÍDICA

Nohelia Lizbeth Pérez Chino¹, Olivia Soria Arteché², Juan Francisco Cortés Benítez², Juan Francisco Palacios Espinosa², Jaime Pérez Villanueva^{2,*}.

¹Maestría en Ciencias Farmacéuticas, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (UAM-X), 04960, Ciudad de México, México.

²Departamento de Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (UAM-X), 04960, Ciudad de México, México.

*Autor de correspondencia: Jaime Pérez Villanueva

Correo: jpvillanueva@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Indazol, *Candida*, antifúngicos.

INTRODUCCIÓN

La candidiasis es una infección provocada principalmente por *Candida albicans*, no obstante, la incidencia de cepas como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. glabrata*, ha aumentado en las últimas décadas.¹ *Candida* representa la segunda causa de infecciones vaginales y la principal causa de infecciones intrahospitalarias.^{1,2} El tratamiento de estas infecciones depende del área infectada, la gravedad y la susceptibilidad de la especie. De manera convencional se recurre al uso de antimicóticos azólicos, sin embargo, estos han mostrado una eficacia en el 80–90% de los casos, pudiendo presentarse recidiva, o bien, la aparición de resistencia a los antifúngicos.³ En nuestro grupo de investigación, se reportó que el 3-fenil-1H-indazol y algunos derivados poseen actividad candidica.⁴ Continuando la búsqueda de nuevos fármacos anti-*Candida*, el presente proyecto tiene como objetivo sintetizar nuevos derivados de 3-fenil-1H-indazol con la finalidad de mejorar la actividad candidica de esta familia de compuestos y ampliar el conocimiento sobre sus relaciones estructura-actividad.

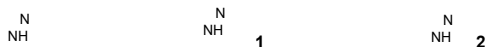
OBJETIVO

Sintetizar derivados de 3-fenil-1H-indazol con potencial actividad candidica.

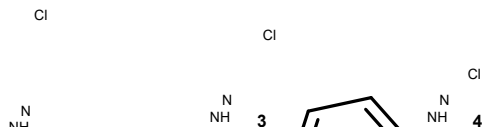
MATERIALES Y MÉTODOS

Se plantearon ocho derivados inspirados en compuestos con un reporte previo por nuestro grupo de investigación, **Figura 1**. La ruta de síntesis para los derivados **1–8** se muestra en el **Esquema 1**. Como primer paso, se llevó a cabo la síntesis del indazol a partir de la *o*-toluidina para su posterior bromación sobre la posición 3. Después se empleó la reacción de acoplamiento C-C de Suzuki-Miyaura con los ácidos o ésteres fenil borónicos correspondientes. Por otro lado, el **Esquema 2** muestra la ruta de síntesis para dos intermediarios clave en la obtención de los compuestos **5** y **6**.

Líder I



Líder II



Líder III

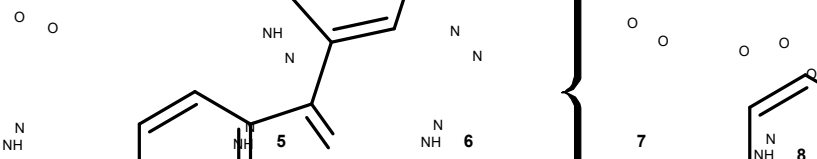
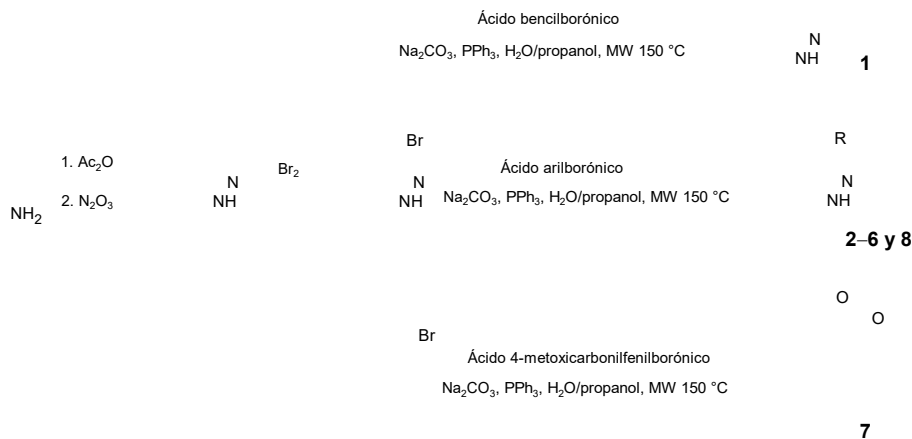
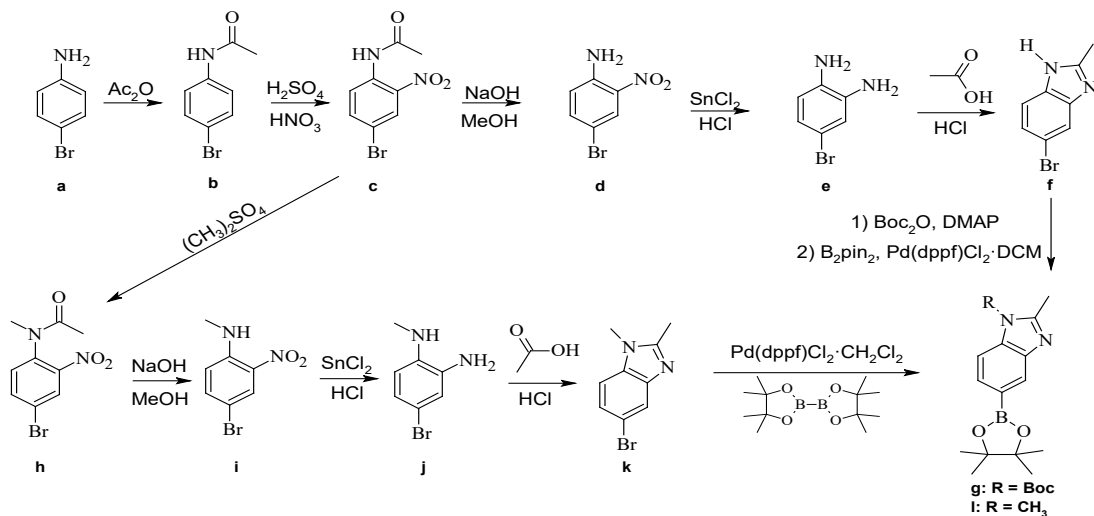


Figura 1. Compuestos cabeza de serie I-III y derivados propuestos para síntesis 1-8.



Esquema 1. Síntesis de los compuestos propuestos 1-8.



Esquema 2. Síntesis de las materias primas para obtener los compuestos 5 y 6.

Considerando las rutas sintéticas planteadas, se han logrado obtener todos los intermediarios y los compuestos finales **3, 4, 6, 7 y 8**. La preparación de los compuestos **1, 2 y 5** sigue pendiente. Los rendimientos y punto de fusión para cada uno de los intermediarios y compuestos se muestran en la **Tabla 1**. Los compuestos **3 y 7** se obtuvieron en rendimientos bajos, por lo que será esencial optimizar el procedimiento para obtener la cantidad suficiente para los ensayos biológicos. Los rangos de punto de fusión fueron estrechos para todos los compuestos y muestran una sola mancha en cromatografía en capa fina.

Tabla 1. Resultados para la síntesis de los compuestos obtenidos

Compuesto	Rendimiento	Punto de fusión	Aspecto
b	99%	99-102 °C	Cristales blancos
c	95%	94-97 °C	Sólido amarillo mostaza
d	91%	99-105 °C	Sólido naranja
e	99%	Líquido	Líquido ámbar
f	91%	130-133 °C	Sólido palo de rosa
g	18%	101-103 °C	Sólido Blanco
h	34%	83-84 °C	Cristal amarillo pálido
i	90%	92-94 °C	Cristal naranja brillante
j	98%	Líquido	Líquido ámbar
k	66%	125-128 °C	Sólido durazno
l	21%	151-154 °C	Sólido amarillo
3	2%	Líquido	Líquido amarillo
4	53%	120-122 °C	Sólido amarillo pálido
6	ND*	ND	Sólido café claro
7	14%	163-165 °C	Sólido nácar
8	91	112-113 °C	Sólido beige

*ND: no determinado

CONCLUSIONES

Se prepararon las materias primas necesarias para sintetizar los derivados del 3-fenil-1*H*-indazol (**5 y 6**), así mismo, se realizó la síntesis de cinco compuestos finales (**3, 4, 6, 7 y 8**). El punto de fusión y la cromatografía en capa fina indican que los compuestos son puros, por lo que serán evaluados por el método de difusión en agar sobre distintas cepas de *Candida*.

BIBLIOGRAFÍA

1. Du, H.; Bing, J.; Hu, T.; Ennis, C. L.; Nobile, C. J.; Huang, G. *PLoS pathog.* **2020**, *16* e1008921.
2. Segal, E.; Frenkel, M. *J. of fungi*, **2018**, *4*, 21.
3. Mashburn, J. *J. Midwifery Womens Health*, **2006**. 51(6), 423-430.
4. Rodríguez-Villar, K.; Hernández-Campos, A.; Yépez-Mulia, L.; Sainz-Espuñes, T. d. R.; Soria-Arteche, O.; Palacios-Espinosa, J. F.; Cortés-Benítez, F.; Leyte-Lugo, M.; Varela-Petrissans, B.; Quintana-Salazar, E. A.; Pérez-Villanueva, J., *Pharmaceuticals* **2021**, *14*, 176.

FC-122 COMO POTENCIAL ANTIDIABÉTICO: SÍNTESIS Y DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD ORAL AGUDA

Paulina Duperou Luna¹, Samuel Álvarez Almazán², Feliciano Tamay Cach², Alejandra Chávez Riveros¹, Jaime Pérez Villanueva¹, Juan Francisco Palacios Espinosa¹, Olivia Sorial Arteché¹, Juan Francisco Cortés Benítez^{1*}.

¹Laboratorio de Síntesis y Aislamiento de Sustancias Bioactivas (N-015), Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Xochimilco.

²Laboratorio de Investigación en Bioquímica Aplicada, Sección de Estudios de Posgrado e Investigación, Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional, Plan de San Luis y Salvador Díaz Mirón s/n, Casco de Santo Tomás, Ciudad de México 11340, México.

*Autor de correspondencia: Juan Francisco Cortés Benítez

Correo: (jcortesb@correo.xoc.uam.mx)

Palabras clave: ácido glicirretínico, diabetes, Proteína Tirosina Fosfatasa 1B, toxicidad oral aguda.

INTRODUCCIÓN

Existen extensas investigaciones que han demostrado que los triterpenos pentacíclicos de tipo oleanano natural muestran una potente actividad inhibitoria y selectividad contra PTP1B (un miembro importante de las proteínas tirosina fosfatasas, el cual puede regular negativamente la vía de metabolización de la insulina) y alfa-glucosidasa (encargada de la hidrólisis de polisacáridos en glucosa), donde podemos encontrar el ácido glicirretínico. Este se encuentra abundantemente como glicirricina en la raíz de regaliz (*Glycyrrhiza glabra L.*) (De-La-cruz-martínez et al., 2021). La glicirricina es el principal componente soluble en agua de la raíz de regaliz. Por hidrólisis, libera dos moléculas de ácido D-glucurónico y la aglicona, ácido glicirretínico. Se ha demostrado que tanto la glicirricina como el ácido 18 β -glicirretínico poseen varias acciones farmacológicas beneficiosas, que incluyen la actividad antidiabética. Los efectos de la glicirricina sobre los cambios asociados con la diabetes son casi comparables con los de la glibenclamida (Sen et al., 2011). Al observar dicha actividad, ha despertado nuestro interés obtener derivados a partir de este triterpeno. Cabe mencionar que hasta la fecha, no se han reportado derivados semisintéticos del ácido glicirretínico como inhibidores de las enzimas PTP1B y alfa-glucosidasa. Lo cual resulta sorprendente ya que este producto natural se extrae relativamente fácil y en gran rendimiento.

Recientemente, en el grupo del Dr. Francisco Cortés Benítez se reportó la síntesis y actividad inhibitoria sobre las enzimas PTP1B y alfa-glucosidasa de derivados semisintéticos del ácido glicirretínico con heterocíclicos fusionados al anillo A. De este estudio, se obtuvo el ácido (18 β)-2'-(4-metilfenil)-11-oxo-2'H-oleano-2,12-dieno-[3,2-c]pirazol-29-oico (con clave FC-122). Este compuesto, es un inhibidor dual de las enzimas PTP1B y alfa-glucosidasa. Su potencia es superior a los compuestos de referencia: ácido ursólico (CI50 = 5.6 μ M) y claramina (CI50 = 13.2 μ M) como inhibidor de la PTP1B con una CI50 = 4.8 μ M. Este compuesto es 5 veces más potente que el fármaco acarbosa (Ki = 26.8 μ M) como inhibidor de la alfa-glucosidasa con una Ki = 5.2 μ M.

Debido a esta actividad dual, el FC-122 se postula como un buen candidato para estudios *in vivo* como antidiabético en un modelo murino. Pero antes es necesario contar con datos acerca de su seguridad. Por lo cual es de vital importancia la realización de pruebas toxicológicas para estudiar los efectos nocivos del FC-122 en un sistema biológico. Lo cual, puede establecer también, la magnitud del daño en función de la exposición del organismo vivo en estudio (Teitelbaum, 2019).

En los estudios realizados anteriormente, el FC-122 se sintetizó a escala de miligramos a partir del ácido glicirretínico. En el presente trabajo, se reporta la síntesis a escala de gramos del mismo compuesto partiendo de la glicirricina (precursor del ácido glicirretínico). También se reporta la dosis letal oral aguda en un modelo murino, siguiendo el procedimiento N° 425 de la OECD.

OBJETIVO

- Llevar a cabo la síntesis del compuesto FC-122 a escala de gramos y evaluar su toxicidad oral aguda en un modelo murino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Parte Química.

La síntesis del compuesto FC-122 se llevó a cabo de acuerdo con el Esquema 1. Se partió de la glicirricina como materia prima, la cual se hidrolizó en un medio ácido para obtener el ácido glicirretínico. Posteriormente, se llevó a cabo la oxidación del carbinol en la posición C3 de este triterpeno para obtener el ácido 3-oxoglicirretínico. Este intermediario se hizo reaccionar con formiato de etilo e hidruro de sodio en THF como disolvente para obtener el ácido 2-formil-3-oxoglicirretínico. Finalmente, este último se hizo reaccionar con el clorhidrato de 4-metilfenilhidrazina en etanol como disolvente para obtener el producto de ciclación que tiene por clave FC-122.

Al compuesto FC-122 se le realizaron pruebas de solubilidad, con la finalidad de encontrar un vehículo adecuado para la administración en ratas. Dicha prueba se llevó a cabo a baja escala, contemplando que el compuesto es hidrofóbico se planteó la utilización de Tween 80, DMSO, aceite de girasol, entre otros.

Parte biológica.

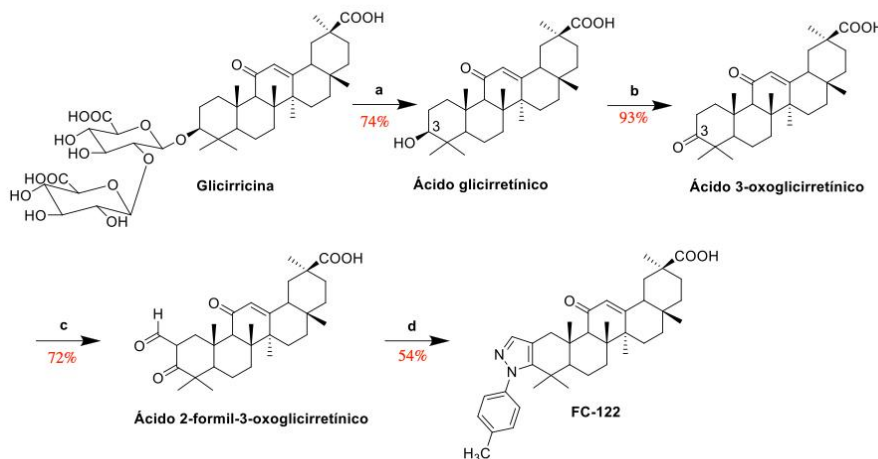
Para este estudio se contemplaron 3 ratas hembra (peso: 220±10 g; edad: 8 a 12 semanas) de la cepa Wistar. Las ratas fueron mantenidas en cajas de prolipropileno y controladas a una temperatura de 22±2 °C en ciclos de 12 h de luz/oscuridad y provistas de agua y comida.

Tres ratas hembra Wistar fueron empleadas para el experimento toxicológico, el cual está basado en la Guía número 425 de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD). Se administraron 3 ratas, distribuidas al azar, la primera dosis oral fue de 175 mg/Kg del compuesto FC-122 para la primera rata, 550 mg/Kg para la segunda y 2000 mg/Kg para la tercera. Posterior a la administración, las ratas se observaron cada 30 min durante las primeras 24 horas y diariamente por 14 días.

RESULTADOS

Síntesis

A partir de la glicirricina y siguiendo la metodología propuesta en el Esquema 1 se obtuvieron 2.8 g del compuesto FC-122 con un rendimiento global del 27%.



Esquema 1. Reactivos y condiciones: a) HCl/H₂O, reflujo, 100 °C, 18 h; b) CrO₃/H₂SO₄, THF, 0°C, 2h; c) THF, NaH, formiato de etilo, 0°C 18 h; d) clorhidrato de *p*-metilfenilhidrazina, EtOH, 70 °C, 4h.

Parte biológica

La administración del compuesto FC-122 a las ratas se hizo en un volumen de 2100 µL de una mezcla DMSO:Tween 80: Aceite de girasol en una proporción 3:3:4.

Se administraron 3 dosis: 384 mg (2000 mg/Kg), 116.6 mg (550 mg/Kg) y 44.97 mg (175 mg/Kg).

Observación

Tabla 1. Observaciones post-administración.

Observaciones

Día	Rata I Dosis: 384 mg	Rata II Dosis: 116.6 mg	Rata III Dosis: 44.97 mg
1 (primeros 30 min)	Aturdida	Aturdida	Aturdida
2-3	Somnolencia Diarrea leve	Somnolencia Diarrea leve	Somnolencia
4-13	Sin anomalías Comportamiento normal	Sin anomalías Comportamiento normal	Sin anomalías Comportamiento normal
14	Día de eutanacia	Día de eutanacia	Día de eutanacia

Eutanacia y necropsia de ratas

Las ratas se sacrificaron mediante un agente inhalable: éter, este es un anestésico volátil, altamente inflamable y explosivo, por lo que el procedimiento se realizó dentro de un área ventilada y en ausencia de fuentes de ignición. Al observar que las ratas ya no tenían signos vitales se procedió a realizar la necropsia.

Rata: dosis 2000 mg/Kg

Día de administración: 16 de Agosto 2023

Día de necropsia: 29 de agosto 2023

Observaciones: Todos los órganos presentaban anatomía y color normal, sin daño alguno.

Rata: dosis 175 mg/Kg

Día de administración: 22 de Agosto 2023

Día de necropsia: 06 de agosto 2023

Observaciones: Todos los órganos presentaban anatomía y color normal, sin daño alguno. Durante el procedimiento se dañó una arteria.

CONCLUSIONES

Se llevó a cabo el escalamiento a gramos, obteniendo ? g del compuesto FC-122 a partir de la glicirricina. También, se pudo determinar la toxicidad oral aguda en un modelo murino en donde se observó que el compuesto en estudio presenta una DL > 2000 mg/kg. Adicionalmente, después de realizar la necropsia de los animales en estudio, se pudo observar que no presentaron daño alguno en órganos por lo que se puede deducir que este compuesto es seguro a las dosis evaluadas.

BIBLIOGRAFÍA:

- De-la-Cruz-Martínez, L., Duran-Becerra, C., González-Andrade, M., Páez-Franco, J. C., Germán-Acacio, J. M., Espinosa-Chávez, J., ... & Cortés-Benítez, F. (2021). Indole-and Pyrazole-Glycyrrhetic Acid Derivatives as PTP1B Inhibitors: Synthesis, In Vitro and In Silico Studies. *Molecules*, 26(14), 4375.
- Sen, S., Roy, M., & Chakraborti, A. S. (2011). Ameliorative effects of glycyrrhizin on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 63(2), 287–296. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2010.01217.x>
- Teitelbaum D.T. (2019). Introducción a la toxicología. Katzung B.G.(Ed.), Farmacología básica y clínica, 14e. McGraw Hill.
- OECD (2022), Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris.

ESTUDIO *IN SILICO* DE NUEVOS DERIVADOS DE 2-AMINOBENZOTIAZOL CON BLANCOS MOLECULARES DE LA DIABETES TIPO 2 Y SU EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA *IN VIVO*

Brenda Moreno de Jesús^{1*}, Miguel Andrés Valdes Guevara¹, David Patiño González^{1,2}, Alejandro Cruz³, Andres Alvarado-Salazar², Jessica Elena Mendieta Wejbe^{1*}.

¹Laboratorio de Biofísica y Biocatálisis, Sección de Estudios de Posgrado e investigación, Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional (IPN), Av. Salvador Díaz Mirón esq. Plan de San Luis s/n, Casco de Santo Tomás, Miguel Hidalgo, 11340 Ciudad de México, México. ²Carrera de Química Farmacéutica Biológica, Área Farmacéutica, Facultad de Estudios Superiores (FES)-Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Batalla 5 de mayo s/n, Ejército de Oriente, Iztapalapa, 09230 Ciudad de México, México. ³Instituto Politécnico Nacional-UPIBI, Laboratorio de Química Supramolecular y Nanociencias, Av. Acueducto s/n, Barrio la Laguna Ticomán 07340, Ciudad de México, México.

*Autor de correspondencia: QFB. Brenda Moreno de Jesús, Dra. Jessica Elena Mendieta Wejbe.

Correo: bmoj0412@hotmail.com, jemw2009@gmail.com

Palabras clave: benzotiazoles, isotioureas, guanidinas, diabetes mellitus

INTRODUCCIÓN:

La diabetes mellitus es un trastorno metabólico crónico que se caracteriza por niveles elevados de glucosa en sangre, secreción de insulina alterada y resistencia a la insulina hepática o periférica. Dentro de los diferentes tipos de diabetes, la de mayor prevalencia es la diabetes tipo 2 (DT2), que se presenta en el 80% de los pacientes diagnosticados a nivel mundial¹.

Existen diferentes tratamientos farmacológicos para el tratamiento de la DT2, los cuales, son conocidos como agentes antihiper glucemiantes orales, sin embargo, muchos de estos medicamentos presentan diversos efectos adversos que pueden derivar en efectos más severos como acidosis láctica, hipersensibilidad cutánea e inclusive aterosclerosis, entre otros². Dentro de las últimas tendencias en la química medicinal destaca la hibridación molecular, la cual se basa en la combinación de dos o más farmacóforos provenientes de diferentes sustancias biológicamente activas para generar una nueva molécula con mayor eficacia y afinidad respecto a las moléculas estándar. Asimismo, se ha reportado que diversos compuestos que incorporan anillos heterocíclicos poseen un papel importante en el diseño y síntesis de agentes antidiabéticos; principalmente, los que contienen átomos de nitrógeno, azufre y oxígeno han captado gran interés de los investigadores, debido a sus innumerables y prometedoras aplicaciones como potenciales anticancerígenos, antivirales, anticonvulsivos, antioxidantes, antimicrobianos y antidiabéticos³.

Con base en lo anterior, nuestro grupo de investigación se ha enfocado en diseñar y sintetizar dos series de moléculas híbridas derivadas de 2-aminobenzotiazol con isotioureas o guanidinas⁴; estos compuestos contienen grupos funcionales considerados clave para la interacción con blancos moleculares implicados en diabetes, como son la aldosa reductasa (ALR2), la 11 beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1 (11 beta-HSD1) y el receptor activado por el proliferador de peroxisomas gamma (PPAR gamma). Por lo cual, se espera

que tengan un potencial efecto como agentes multifuncionales y que, además presenten la característica de ser más seguros, con una alta eficacia farmacológica y de costo asequible.

OBJETIVO:

General

Evaluar *in silico* los compuestos derivados de 2-aminobenzotiazol como agentes antidiabéticos e *in vivo* su seguridad toxicológica.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Obtención *in silico* de las propiedades fisicoquímicas, farmacocinéticas, toxicológicas y de bioactividad, para realizar una serie de cribados virtuales. Determinación de las interacciones moleculares de los compuestos finalistas con los blancos ALR2, 11 beta-HSD1 y PPAR gamma empleando diversas plataformas y softwares (Figura 1).

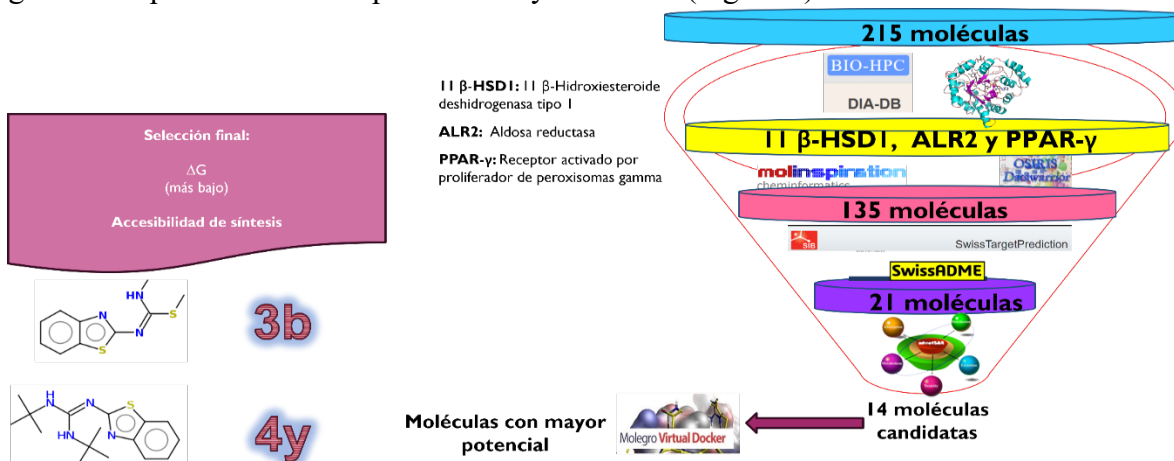


Figura 1. Esquema general del estudio *in silico*.

Determinación de la toxicidad oral aguda en ratas macho de la cepa Wistar.

Determinación de la DL₅₀ de los compuestos 3b y 4y, empleando el método de arriba y abajo, de acuerdo con la Guía número 425 de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD) (Figura 2).

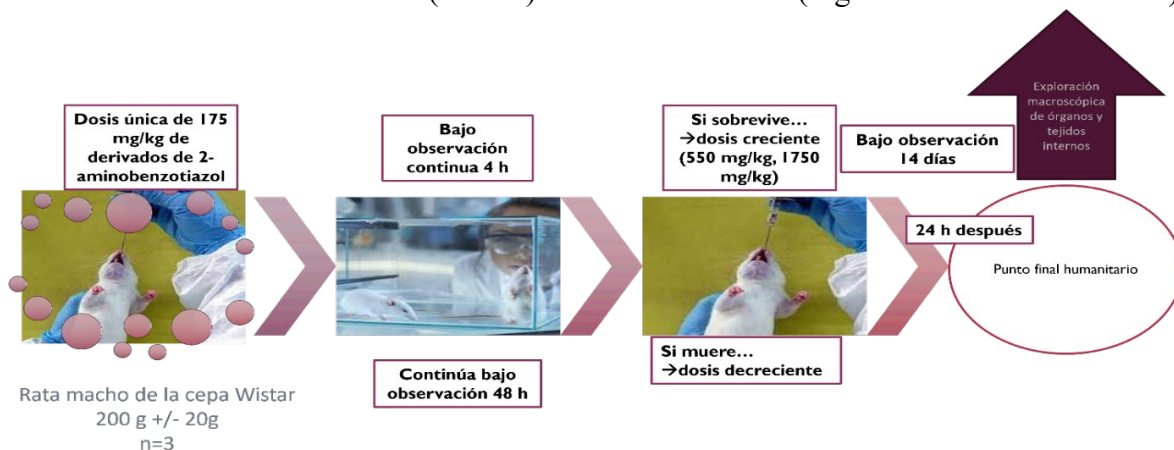


Figura 2. Esquema general del estudio de toxicidad.

RESULTADOS:

Estudios *in silico*

Se determinaron diversas propiedades fisicoquímicas, farmacocinéticas, toxicológicas y de bioactividad de las 215 moléculas propuestas, con la finalidad de realizar una serie de cribados virtuales, obteniéndose 14 moléculas candidatas. A éstas, se les realizó acoplamiento molecular (docking) (Figura 3-5), con previa validación del método mediante el uso de ligandos de referencia. Posteriormente, se realizó el análisis comparativo de los valores de la energía libre de unión de estas últimas ALR2, 11 beta-HSD1 y PPAR gamma. Los resultados se muestran a continuación en la tabla 1.

Tabla 1. Propiedades de los compuestos seleccionados en el cribado virtual final y el fármaco de referencia.

Compuesto	Similitud de fármacos		Toxicidad (TOX prediction)		Farmacocinética			Química medicinal	ΔG (kcal/mol)		
	Lipinski	TPSA	Toxicidad*	DL ₅₀	GI	BHE	P-gp	Accesibilidad de síntesis	11βHSD1	ALR2	PPARγ
3b	✓	37.28	✗	1000mg/kg	Δ	✗	✗	2.83	-7.6	-8.6	-7.5
4y	✓	49.31	✗	1190 mg/kg	Δ	✗	✗	3.36	-8.2	-9.4	-8.0
Pioglitazona	✓	68.3	✗	1190mg/kg	Δ	✗	✗	3.46	-9.6	-9.5	-9.5
Zopolrestat	✓	85.09	✗	1190mg/kg	Δ	✗	✗	3.20	-8.8	-10.7	-10.1
Metformina	✓	88.99	✗ ; M,E✓	1300mg/kg	Δ	✗	✗	3.11	-4.7	-6.4	-5.7

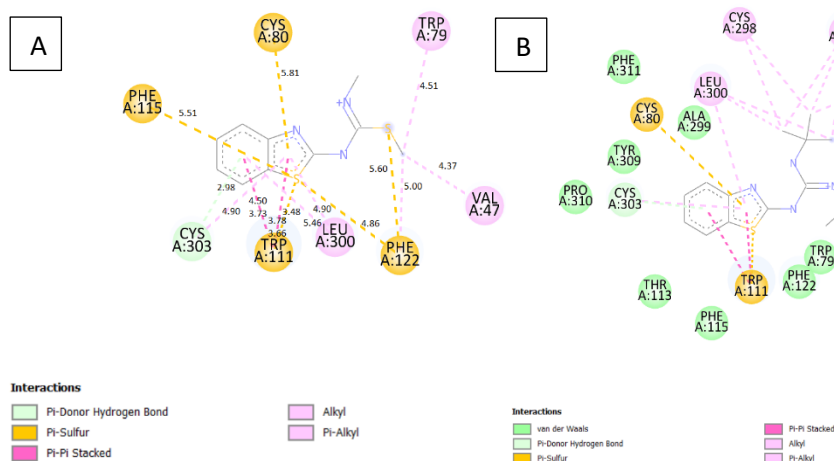


Figura 3. Interacciones moleculares entre 3b (A) y 4y (B) con ALR2.

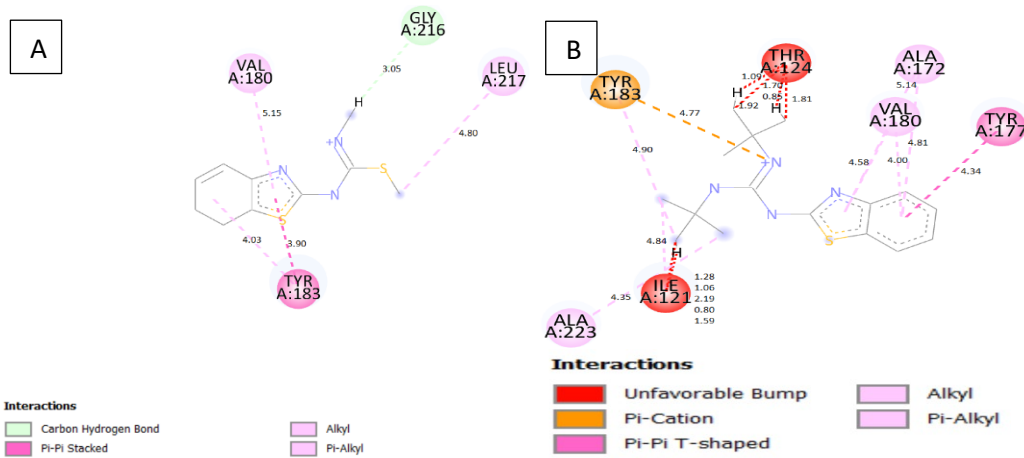


Figura 4. Interacciones moleculares entre 3b (A) y 4y (B) con 11 beta-HSD1.

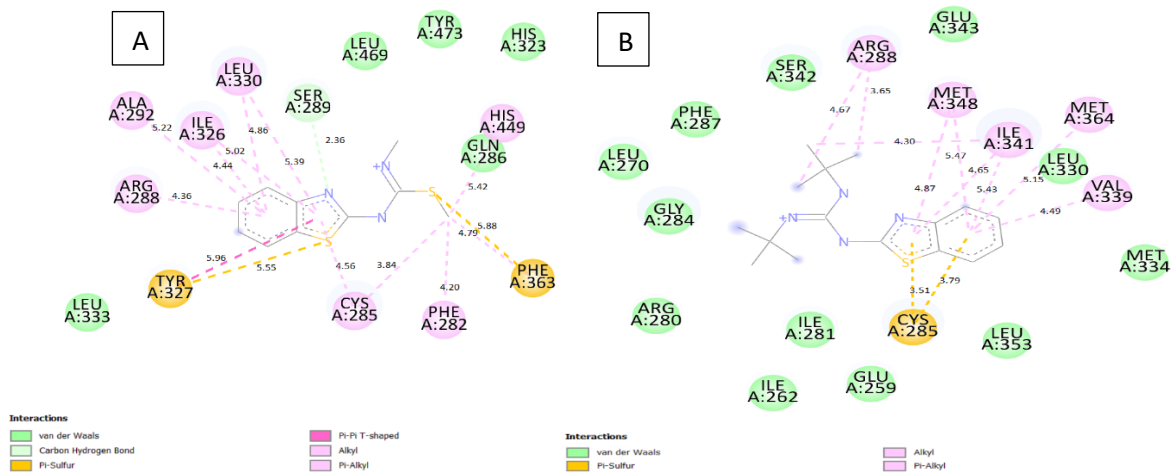


Figura 5. Interacciones moleculares entre 3b (A) y 4y (B) con PPAR gamma.

Determinación de la toxicidad oral aguda en ratas macho de la cepa Wistar.

Tabla 2. Datos obtenidos de las pruebas de toxicidad de los compuestos 3b y 4y.

3b			
Dosis (mg/kg)	% de mortalidad	DL ₅₀ (mg/Kg)	Categoría
175	0	>1750mg/Kg	Clase IV
550	0		
1750	0		

4y			
Dosis (mg/kg)	% de mortalidad	DL ₅₀ (mg/Kg)	Categoría
175	0	>1750mg/Kg	Clase IV
550	0		
1750	0		

DL₅₀ 3b y 4y > 1750 mg/kg

CONCLUSIONES:

El estudio *in silico* mostró que :

- Los nuevos derivados de 2-aminobenzotiazol propuestos poseen características favorables que permiten obtener un compuesto activo con biodisponibilidad y perfil de toxicidad adecuados, además, presentan alta afinidad por blancos moleculares implicados en la diabetes tipo 2; ALR2, 11 beta-HSD1 y PPAR gamma.

La evaluación *in vivo* mostró que:

- Ambos derivados de 2-aminobenzotiazol poseen una DL₅₀ >1750 mg/kg, los dos compuestos seleccionados se clasifican como sustancia moderadamente peligrosa (clase IV) de acuerdo con el Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos de la ONU.

Estos resultados *in vivo* e *in silico* nos dan la pauta a continuar investigando los compuestos propuestos, ya que los datos obtenidos indican que son moléculas con un alto potencial como tratamiento alternativo para esta enfermedad que representa un problema de salud mundial.

BIBLIOGRAFÍA:

1. OMS. **2018**. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
2. Álvarez-Almazán S. Síntesis y evaluación biológica de compuestos con doble anillo de 2,4-tiazolidindiona en un modelo de diabetes mellitus tipo 2. Tesis de Doctorado **2020**. Escuela Superior de Medicina, IPN.
3. Venkatesh, P; Pandeya, SN. *International journal of PharmTech Research*. **2009**, 1(4), 1354-1358.
4. Padilla, I; González, JM; García, E; Cruz, A; Ramos, AA. *J. molecules*. **2019**, 24, 3391.

AGRADECIMIENTOS:

A los proyectos SIP 20212140 y SIP 20220675.

SÍNTESIS DE DERIVADOS DEL ÁCIDO LITOCÓLICO COMO
POTENCIALES INHIBIDORES DE LA PTP1B PARA EL TRATAMIENTO DE
LA DIABETES TIPO 2

Mitzi López Sánchez¹, María Eugenia Mendoza Jasso^{1,2}, Martín González Andrade³, Jaime Pérez Villanueva, Juan Francisco Palacios Espinosa, Olivia Soria Arteché, Juan Francisco Cortés Benítez^{1*}

¹Departamento de Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (UAM-X), 04960, Ciudad de México, México.

²Doctorado en Ciencias Farmacéuticas, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (UAM-X), 04960, Ciudad de México, México.

³Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), 04510, Ciudad de México, México

*Autor de correspondencia: Dr. Juan Francisco Cortés Benítez

Correo: jcortesb@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: ácido litocólico, Proteína Tirosina Fosfatasa 1B, diabetes, obesidad.

INTRODUCCIÓN

La diabetes es un problema de gran preocupación a nivel nacional ya que aproximadamente el 10.7% de la población mayor de 20 años fue diagnosticada con diabetes en el 2018 lo que la convierte en la enfermedad con mayor prevalencia en México. Desafortunadamente, se prevé que el número de casos se duplique para el año 2045.¹ Adicionalmente, la diabetes es una de las enfermedades causante del mayor número de defunciones en nuestro país (14% del total). La tasa de mortalidad en el 2020 fue de 11.95 por cada 10 mil habitantes.² De todos los tipos de diabetes, el tipo dos (DM2) es la más común con un 80-90% de casos.³ Es importante mencionar que esta enfermedad es también la primera causa de todas las amputaciones de miembros inferiores, así como un factor importante de causa de ceguera, insuficiencia renal, infarto de miocardio y accidente cerebrovascular.³ También, los pacientes diabéticos infectados con SARS-CoV-2 tienen una tasa más alta de admisión hospitalaria, neumonía severa y mayor mortalidad en comparación con sujetos no diabéticos.⁴

La enzima Proteína Fosfatasa 1B (PTP1B por sus siglas en inglés) está involucrada en la regulación negativa de la insulina y leptina (ambas relacionadas a la diabetes y obesidad, respectivamente). Se ha demostrado que la inhibición de esta diana farmacológica disminuye significativamente los niveles de glucosa y triglicéridos en sangre.⁵ Hasta el momento, no existen fármacos en el mercado que actúen sobre PTP1B por lo que es necesario generar nuevas entidades químicas que sean capaces de inhibirla. En este sentido se sabe que el ácido litocólico (AL), es un ácido biliar que inhibe débilmente a la PTP1B. Hasta la fecha, no se tiene suficiente evidencia sobre los requerimientos estructurales necesarios del AL para inhibir a la PTP1B. Solo algunos reportes sugieren que grupos voluminosos unidos al anillo A del AL incrementan su potencia.^{7,8} En nuestro grupo de trabajo, se han identificado dichas modificaciones necesarias mediante métodos de química computacional, específicamente acoplamiento molecular. Estas modificaciones incluyen la incorporación de heterociclos

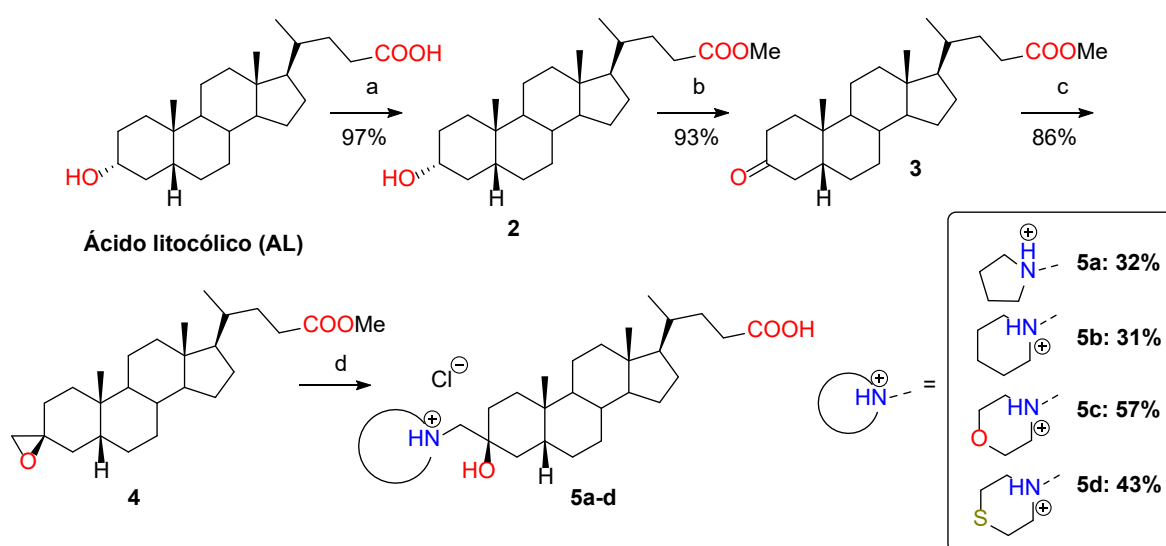
alifáticos en la posición 3 del AL tales como la pirrolidina, piperidina, morfolina y tiomorfolina. En este trabajo se presenta la síntesis de dichos compuestos a partir del AL.

OBJETIVO

Sintetizar derivados del ácido litocólico con diferentes heterociclos alifáticos en C3 como inhibidores potenciales de la PTP1B.

MATERIALES Y MÉTODOS

La síntesis de los compuestos propuestos (**5a-d**) se ilustra en el Esquema 1. Estos derivados se prepararon a partir del ácido litocólico, el cual se esterificó para obtener el intermediario **2**. Este posteriormente se oxidó a la cetona correspondiente para obtener el intermediario **3**, el cual, se hizo reaccionar en condiciones de la epoxidación de Corey-Chaykovsky para obtener el compuesto **4**. Este, se hizo reaccionar con los diferentes azaheterociclos alifáticos (pirrolidina, piperidina, morfolina y tiomorfolina). Posteriormente el éster en posición 24 fue hidrolizado en condiciones alcalinas y finalmente se generó el clorhidrato para cada compuesto por medio de su tratamiento con ácido clorhídrico.



Esquema 1. Reactivos y condiciones: a) $\text{SOCl}_2/\text{MeOH}$, 0°C , 1.5 h; b) PDC/DCM , t.a. 24h; c) $(\text{CH}_3)_3\text{SO}^+\text{I}^-$, THF, NaH, DMSO; d) $\text{R}_2\text{NH}/\text{EtOH}$, 60°C ; 2. KOH/MeOH , 60°C , 2h; 3. HCl conc/DCM.

RESULTADOS

Los resultados en cuanto al rendimiento para cada reacción se ilustran en el Esquema 1. Los compuestos fueron obtenidos en 4 pasos de reacción con rendimientos globales que oscilan entre el 24% y 44%. Todos los intermediarios y productos finales fueron caracterizados por RMN ^1H y RMN ^{13}C . Las señales más características se ilustran en la Figura 1.

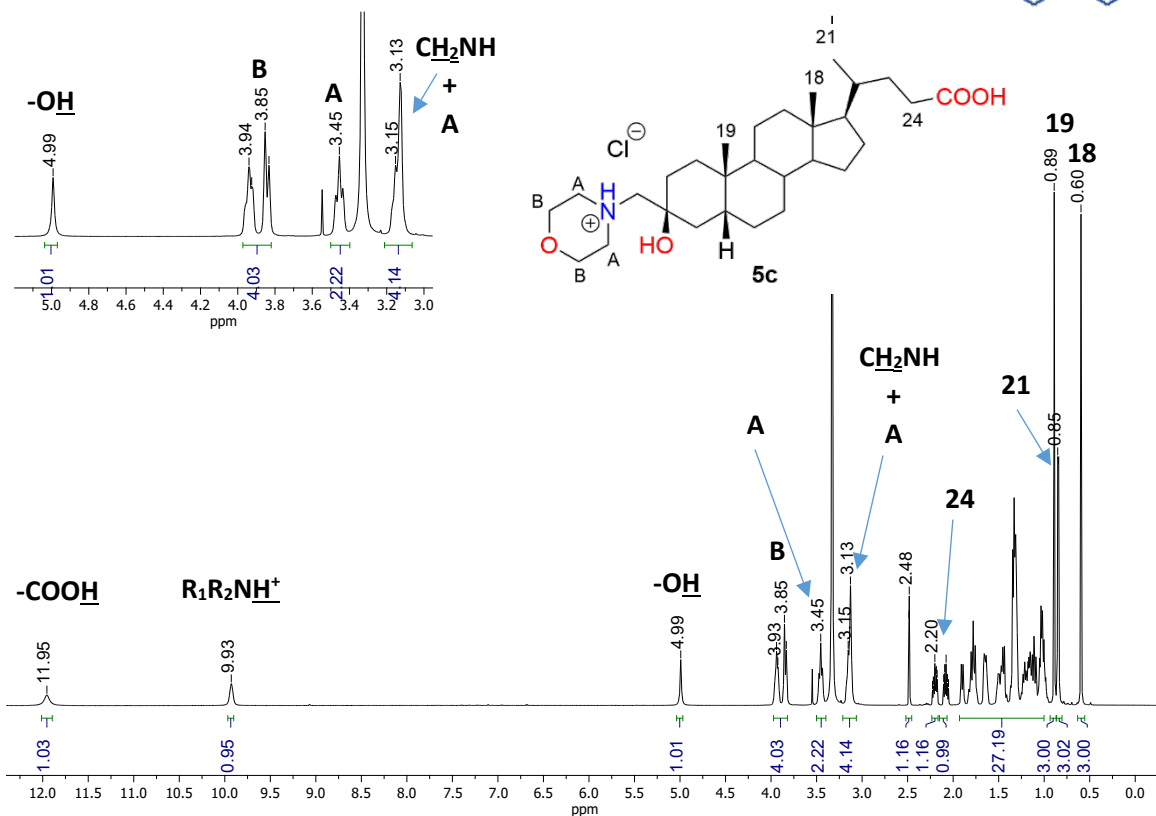


Figura 1. Espectro de RMN ^1H del compuesto **5c** con sus señales más características

CONCLUSIONES

Se sintetizaron 4 derivados del ácido litocólico con diferentes heterociclos alifáticos unidos a la posición C3. Estos compuestos se sintetizaron a partir del ácido litocólico en 4 pasos de reacción con rendimientos globales de entre el 24 y 44%. En un futuro cercano estos compuestos serán evaluados como inhibidores de la enzima PTP1B.

BIBLIOGRAFÍA

- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018, página web consultada en 7 de mayo del 2022 en <https://www.insp.mx/avisos/5206-primeros-resultados-ensanut-2018.html>
- “ESTADÍSTICAS A PROPÓSITO DEL DÍA MUNDIAL DE LA DIABETES”, INEGI 2020. Página web consultada en 30 de agosto del 2022 en: https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2021/EAP_Diabetes2021.pdf
- Diabetes, Clinic Barcelona Hospital Universitari, página web consultada el 30 de agosto del 2022 en <https://www.clinicbarcelona.org/asistencia/enfermedades/diabetes/diabetes-tipo-2>
- Instituto Nacional de Salud Pública. (s.f.). Diabetes, causa principal de muerte en México*. Página web consultada el 30 de agosto 2022 en: <https://www.insp.mx/presencia-insp/3877-diabetes-causa-muerte-mexico.html>
- Lima-Martínez, M. M., Boada, C. C., Madera-Silva, M. D., Marín, W., & Contreras, M. *Clinica E Investigacion En Arteriosclerosis*, **2021**, 33(3), 151-157.
- H. Cho, Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) and obesity., 1st ed., Elsevier Inc., **2013**.
- He, H. B., Gao, L. X., Deng, Q. F., Ma, W. P., Tang, C. L., Qiu, W. W., ... & Yang, F. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, **2012**, 22(23), 7237-7242.
- Mao, S. W., Shuai, L., He, H. B., Pan, N., Gao, L. X., Yu, L. F., *RSC advances*, **2015**, 5(129), 106551-106560.

CARACTERIZACIÓN DEL EFECTO CITOTÓXICO DE *N*-(2-MORFOLINOETIL)-2-(NAFTALEN-2-ILOXI)ACETAMIDA EN CÉLULAS DERIVADAS DE CÁNCER CÉRVICO-UTERINO

Cristina Martínez Nava[†], Miguel Ángel Zavala Sánchez[†], Carlos Alberto Méndez Cuesta[†], Cuauhtémoc Pérez González^{†*}.

[†]Departamento de Sistemas Biológicos UAM-X

*Autor de correspondencia: Cuauhtémoc Pérez González

Correo: cperezg@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Citotoxicidad, Naftoxiacetamida, HeLa.

INTRODUCCIÓN: El cáncer es una enfermedad causada por la alteración de proto-oncogenes y genes supresores tumorales, que posee una gran prevalencia en la población y es una de las principales causas de muerte en todo el mundo. Para su tratamiento, existen diferentes opciones de terapia, pero estos no siempre son efectivos para todos los tipos de cáncer existentes, lo que da pie a la búsqueda de nuevos compuestos.

El receptor σ_1 es uno de los muchos factores involucrados con el cáncer, ya que se encuentra modulando procesos de proliferación celular y angiogénesis. Su manipulación puede producir acciones citoprotectoras o citotóxicas dependiendo del ligando con el que se acople. Los agonistas del receptor σ_1 promueven la supervivencia celular al favorecer la disociación del complejo que forma dicho receptor con BiP, lo que permite la disminución de la cantidad de proteínas mal plegadas en el RE, causadas por el estrés oxidativo (Narayanan et al., 2011; Oyer et al., 2019). Por el contrario, los antagonistas del receptor σ_1 impiden la disociación del complejo, esto conlleva a una acumulación de proteínas mal plegadas y a la activación del mecanismo de respuesta a las mismas (UPR) por parte del RE, finalizando en la muerte celular (Schönthal, 2012). Por otro lado, varios tipos de células normales presentan el receptor σ_1 , sin embargo, sus antagonistas sólo pueden inducir la muerte celular en el tejido canceroso (Spruce et al., 2004; van Waarde et al., 2015). Estas características, permiten que el receptor σ_1 se convierta en un posible blanco terapéutico.

OBJETIVO (S): Diseñar, sintetizar y caracterizar los efectos *in vitro* inducidos por *N*-(2-morfolinoetil)-2-(naftalen-2-iloxi)acetamida como antagonista del receptor σ_1 sobre la tasa de crecimiento de la población de células cancerosas de tipo HeLa.

MATERIALES Y MÉTODOS: La síntesis de la naftoxiacetamida se realizó siguiendo la metodología descrita por Babad & Ben-Ishai, posteriormente se caracterizó el compuesto con ayuda de espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C realizados en un equipo Agilent modelo DD2 de 600 MHz, usando CDCl_3 como disolvente y TMS como referencia a 0.

En el estudio de acoplamiento molecular se utilizó la estructura del receptor σ (ID de PDB: 1n45) obtenido de la base de datos Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb>), así como,

una serie de programas computacionales especializados: Chimera 1.13, AutoDock 4.2, AutoDock VINA, GOLD 2020.3.0, PyMOL 2.4 y Discovery Studio 19.1.

Para la prueba biológica se utilizó una línea celular derivada de cáncer tipo HeLa (cáncer cérvico-uterino) referenciada de la American Type Culture Collection (ATCC), la cual se cultivó en medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado con 10% de suero fetal de bovino (SFB) y antibióticos (100 unidades/mL de penicilina y 100 $\mu\text{g/mL}$ de estreptomycin), a temperatura de incubación de 37 °C y 5% CO_2 . La caracterización del efecto se realizó mediante un ensayo basado en la reducción metabólica del Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difenilretrazol (MTT) en un compuesto de color azul (formazan), permitiendo determinar la viabilidad de las células tratadas. Los cultivos celulares fueron sembrados a una densidad de 5,000 células/pozo en placas de 96 pozos y tratados por hexaplicado con diferentes concentraciones del compuesto a probar (0.31-1 $\mu\text{M/mL}$) por 24 h. Las células sin tratamiento sirvieron como control negativo y como control positivo se utilizó Cisplatino (3.32 $\mu\text{M/mL}$); además de un control con DMSO al 1% para ver la influencia provocada por el disolvente utilizado en la disolución del compuesto. Al final del experimento se adicionaron 10 μL de una solución de MTT (0.5 mg/mL) y la placa se incubó a 37°C por 4 horas. Posteriormente el medio se removió y se adicionaron 100 μL de DMSO para disolver los cristales de formazan. Las microplacas se leyeron en un lector de ELISA a 575 nm (Mosmann, 1983).

RESULTADOS: De acuerdo con los resultados obtenidos con el programa VINA para el acoplamiento molecular, la naftoxiacetamida presenta una energía de unión $\Delta G = -10.1$ kcal/mol, además, presenta interacciones tipo puente de hidrógeno entre el par electrónico de la amida del ligando y el residuo Glu172. También se observan interacciones π - π entre el naftaleno y Tyr103, así como π -alquilo con Leu95, Leu182 y Ala185. El mismo tipo de interacción se observa entre la morfolina y los residuos Ile124 e His154 (Figura 1). Además, el programa GOLD indicó que existen interacciones hidrofóbicas con Tyr120, Ser117, Thr181 y Tyr206.

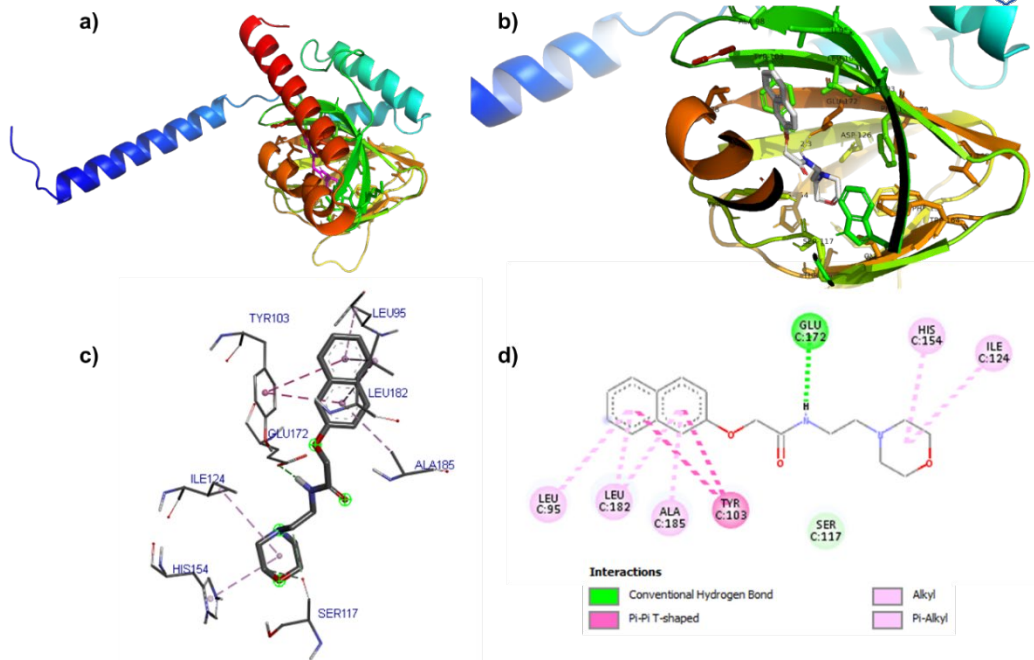


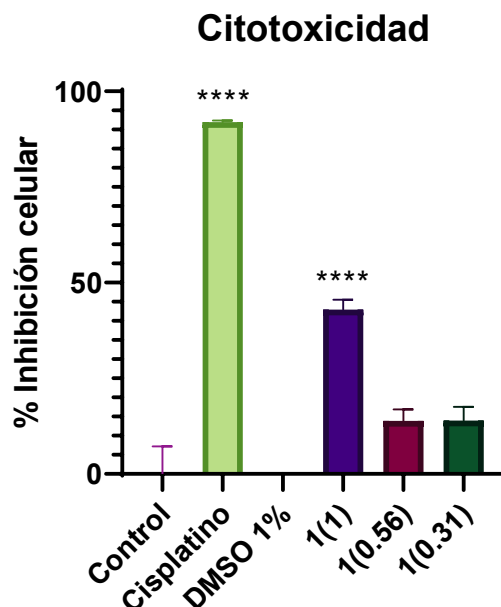
Figura 1. a) Estructura de la cadena C del receptor σ_1 humano formando un complejo con el ligando. b) Primer plano del sitio de unión del ligando con varias cadenas laterales de aminoácidos y el ligando. c) Vista en 3D de las interacciones entre el ligando y los residuos del sitio de unión. d) Vista en 2D de las interacciones entre el ligando y los residuos del sitio de unión.

En la tabla 1 se muestran los resultados de la síntesis de *N*-(2-morfolinoetil)-2-(naftalen-2-iloxi)acetamida.

Tabla 1. Datos fisicoquímicos de *N*-(2-morfolinoetil)-2-(naftalen-2-iloxi)acetamida.

Peso Molecular	Descripción	Punto de fusión	Rendimiento
314.39 g/mol	Cristales cafés	93-96 °C	89.11%

En la gráfica 1, se puede observar la actividad citotóxica presente en el compuesto a una concentración de 1 μ M/mL, que equivale al 42.97% de inhibición.



Gráfica 1. El efecto citotóxico a las 24 h representado en % de inhibición del compuesto a concentraciones de 1, 0.56 y 0.31 $\mu\text{M}/\text{mL}$, usando como fármaco de referencia Cisplatino 3.32 $\mu\text{M}/\text{mL}$ en el ensayo de MTT. Los datos se muestran como la Media \pm Error Estándar de $n=6$. ANOVA, prueba post hoc de Dunnet, **** $p<0.0001$ vs Control.

CONCLUSIONES: Se logró sintetizar el compuesto *N*-(2-morfolinoetil)-2-(naftalen-2-iloxi)acetamida y este evidenció efectos citotóxicos.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Babad, E., & Ben-Ishai, D. d. *J. Heterocycl. Chem.* **1969**, 6(2), 235-237.
2. Mosmann, T. *J. Immunol. Methods* **1983**, 65(1-2), 55-63.
3. Narayanan, S., Bhat, R., Mesangeau, C., Poupaert, J. H., & McCurdy, C. R. *Future Med. Chem.* **2011**, 3(1), 79-94.
4. Oyer, H. M., Sanders, C. M., & Kim, F. J. *Front. Pharmacol.* **2019**, 10, 1141.
5. Schönthal, A. H. *Scientifica* **2012**.
6. Spruce, B. A., Campbell, L. A., McTavish, N., Cooper, M. A., Appleyard, M. V. L., O'Neill, M., . . . Murray, K. *Cancer Res.* **2004**, 64(14), 4875-4886.
7. van Waarde, A., Rybczynska, A. A., Ramakrishnan, N. K., Ishiwata, K., Elsinga, P. H., & Dierckx, R. A. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* **2015**, 1848(10), 2703-2714.

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE REDES METALORGÁNICAS
BASADAS EN LA TETRAHIDROXIPORFIRINA

Miguel Martell Mendoza[†], Hiram Isaac Beltrán Conde[†], Ernesto Rivera Becerril[†], Carlos Alberto Méndez Cuesta, Cuauhtémoc Pérez González*.

[†]Universidad Autónoma Metropolitana

*Autor de correspondencia:

Correo: cperezg@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Porfirina, MOF, ácido acetilsalicílico, liberación controlada, fenoxiporfirinas.

INTRODUCCIÓN: Las MOFs son materiales híbridos porosos emergentes que, por su cristalinidad, porosidad permanente, estabilidad química, térmica y mecánica, y su capacidad de almacenar múltiples sustancias, han despertado gran interés en aplicaciones biofarmacéuticas¹. Existen múltiples reportes de MOFs utilizadas como matrices de almacenamiento y liberación de fármacos debido a que tienen áreas superficiales nunca descritas y una estabilidad y selectividad superior a formas farmacéuticas convencionales. Esto abre la posibilidad de generar materiales capaces de superar las dosis de fármaco alcanzadas por formas farmacéuticas comerciales y de disminuir efectos adversos debido a la selectividad alcanzada. Por su parte las porfirinas al ser ligandos endógenos abren la posibilidad de generar materiales multifuncionales, ya que se ha descrito que estos macrociclos han sido utilizados en terapias para combatir el cáncer, infecciones bacterianas, etc.

OBJETIVO (S): Sintetizar MOFs basadas en porfirinas hidroxiladas como ligandos y metales biocompatibles como Zn, Cu, Co, Al, Mg, etc.

MATERIALES Y MÉTODOS: Las porfirinas se sintetizaron mediante el método Adler². Así mismo, las MOFs se sintetizaron por metodologías solvotermales. En ambos casos, porfirinas y MOFs, se caracterizaron por FTIR, UV-vis, RMN, TGA y DRXP.

RESULTADOS: Se obtuvo la 5, 10, 15, 20-tetrakis(4-hidroxifenil)porfirina en un rendimiento del 23%. Se obtuvo un material con el compuesto de coordinación de cobalto de la porfirina y se retículo con aluminio para obtener un material cristalino y térmicamente estable, el análisis termogravimétrico, mostró que al calentarlo hasta 900 °C se conservó el 77% del peso inicial

CONCLUSIONES: Se obtuvo y caracterizó el ligando para la construcción de la MOF, la porfirina TpOHPP, se obtuvo en un buen rendimiento, el complejo de coordinación TpOHPP(Co) se logró preparar con un rendimiento del 86.2%. Se obtuvo la MOF como un material cristalino denominado AlTpOPP(Co) en un rendimiento del 78.9%. El material cristalino AlTpOPP(Co) mostró alta estabilidad térmica y persistencia estructural.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Anand, R., Borghi, F., Manoli, F., Manet, I., Agostoni, V., Reschiglian, P., Gref, R., Monti, S. “*Host-Guest Interactions in Fe(III)-Trimesate MOF Nanoparticles Loaded with Doxorubicin*”. The Journal of Physical Chemistry. **2014**, 118, 8532-8539.
2. Cabral de Melo, C., Conceição, W., Joi Martins, T., Cordeiro, M., Ellena, J., Fernandes, F., Terra Martins, F. “Saddle-shaped macrocycle distortion and symmetry decrease in cobalt (II) meso-tetraphenylporphyrin: Structure of a dichloromethane solvate and DTF calculations”. Journal of Molecular Structure. 2014, 1076, 468-474.

FORMACIÓN DE SISTEMAS SUPRAMOLECULARES HESPERIDINA-
CICLODEXTRINA UTILIZANDO CO₂ SUPERCRÍTICO.

Luis José López Méndez^{†*}, Liz Yarith López Ramírez[†], Kimberly Pineda Vaquero[†], Julia Cassani Hernández[†].
[†]Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Departamento de Sistemas Biológicos. Ciudad de México, 04960, México
Correo: luisim2g@gmail.com

Palabras clave: *acarreadores de fármacos, ciclodextrinas, fluidos supercríticos.*

INTRODUCCIÓN: Se ha reportado que a partir de la pandemia de Covid-19, la prevalencia a nivel nacional de los trastornos de ansiedad (TA) se ha incrementado entre el 20.8 y 40 %, por lo que atender este padecimiento debe ser una prioridad sanitaria, económica y social.¹ La hesperidina un flavonoide presente en cítricos, se presenta como una buena alternativa para el tratamiento de los TA. Sin embargo, debido a su baja solubilidad acuosa, la hesperidina presenta una baja biodisponibilidad. En este sentido el uso de acarreadores moleculares puede ser una alternativa para superar estas dificultades.²

Las ciclodextrinas son una clase de oligosacáridos cíclicos de glucosa. Estas son utilizadas como acarreadores por la industria farmacéutica, para incrementar la solubilidad acuosa de fármacos, generando así una mejora en la biodisponibilidad. Esto se puede lograr gracias a la propiedad que tienen las ciclodextrinas para formar sistemas conocidos como complejos de inclusión.³

El uso de fluidos supercríticos se ha presentado como una estrategia en química verde, y se ha reportado que puede ser utilizada para la formación de complejos de inclusión, con una disminución en los tiempos de reacción y una mayor carga de fármaco.⁴

Por lo mencionado anteriormente, en el presente trabajo de investigación se utilizará CO₂ supercrítico para la formación de complejos de inclusión entre la β -ciclodextrina y hesperidina. La cantidad de cada flavonoide contenido en los complejos de inclusión será determinada mediante la interpolación de las absorbancias obtenidas en c de curvas de calibración construidas a partir de UV-Vis.

OBJETIVO (S): Incrementar la solubilidad acuosa de la hesperidina mediante la formación de complejos de inclusión con β -ciclodextrina utilizando CO₂ supercrítico.

MATERIALES Y MÉTODOS: *Formación de complejos de inclusión con hesperidina mediante uso de fluidos supercríticos.* Colocar en el reactor de CO₂ supercrítico cantidades equimolares de hesperidina y β -ciclodextrina, inyectar 30 mL de CO₂ supercrítico en condiciones de temperatura y presión controladas. Pasado el tiempo de reacción suspender el sólido en agua destilada, liofilizar y caracterizar mediante RMN ¹H, FT-IR y cuantificar por UV-Vis como se describe a continuación.

Ensayo de solubilidad para el complejo de inclusión. En un tubo cónico de 2 mL colocar 5 mg de complejo de inclusión y 1 mL de agua destilada. Dejar en agitación a temperatura ambiente durante 24 h. centrifugar y tomar una alícuota de 500 μ L del sobrenadante, aforar a 5 mL con agua y leer en el UV-Vis.

Elaboración de curvas de calibración de Hesperidina. A partir de una disolución Stock de 1mg/mL en MeOH, realizar 7 diluciones para obtener las concentraciones adecuadas con absorbancias a 280 nm en un rango de 0.1 a 1 u.a. Interpolar las absorbancias obtenidas en el ensayo de solubilidad para determinar la concentración de hesperidina.

RESULTADOS:

Se muestra el espectro de RMN ^1H para el complejo de inclusión y su comparación con hesperidina. Mediante esta técnica se puede corroborar la formación del complejo de inclusión mediante el desplazamiento de algunas señales que corresponden a la hesperidina, lo cual indica la interacción de ésta con la β -ciclodextrina.

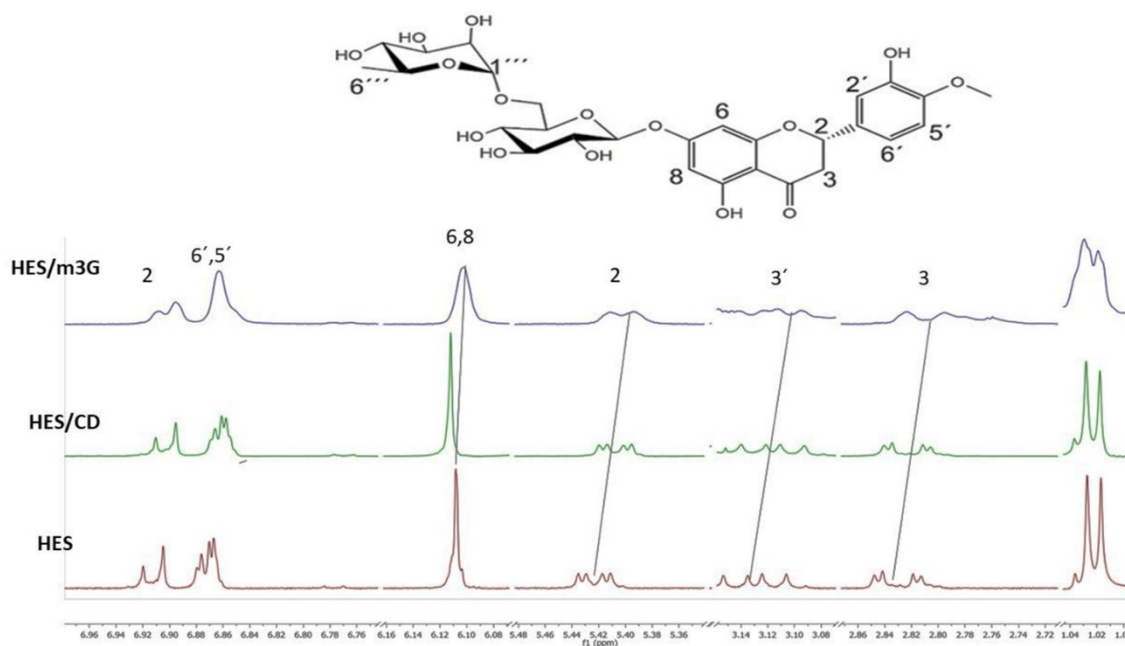


Fig.1. RMN ^1H en DMSO- d_6 /D $_2$ O 1/1. de la hesperidina libre. Arriba se muestra el espectro de hesperidina en el complejo de inclusión con β -ciclodextrina.

A continuación, se muestran los espectros UV-Vis obtenidos a partir del ensayo de solubilidad del complejo de inclusión (CI) y de hesperidina como control. Se puede observar absorbancia más alta para el CI, lo cual indica el incremento en la solubilidad.

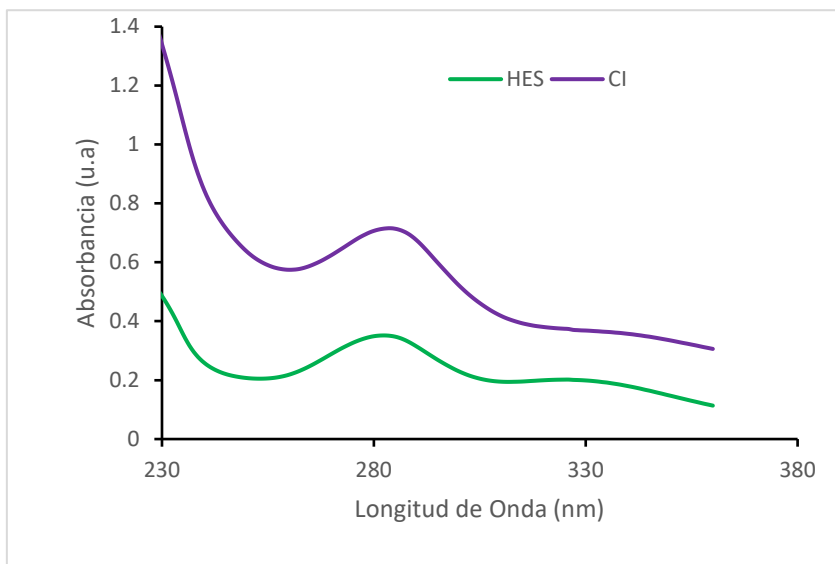


Fig.2 Espectros UV-Vis de hesperidina (HES) y del complejo de inclusión (CI) en agua desionizada.

Finalmente se muestra la curva de calibración que se elaboró para la cuantificación de hesperidina en la prueba de solubilidad.

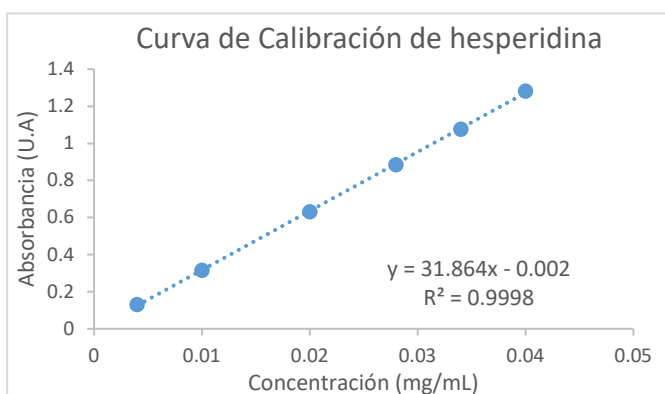


Fig.3 Curva de calibración de hesperidina.

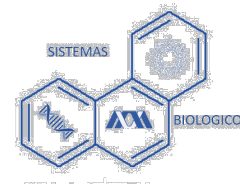
CONCLUSIONES: Se logró generar un incremento en la solubilidad de hesperidina mediante la formación de complejos de inclusión con β -ciclodextrina, utilizando CO_2 supercrítico a una temperatura de 55°C y una presión de 220 Bar. La metodología aquí mostrada podría servir como punto de partida para la formación de complejos de inclusión con otros fármacos con problemas de solubilidad.

BIBLIOGRAFÍA:

- 1 D. Duchêne, D. Wouessidjewe and G. Ponchel, *J. Control. Release*, 1999, **62**, 263–268.
- 2 G. Crini, S. Fourmentin, É. Fenyvesi, G. Torri, M. Fourmentin and N. Morin-Crini, *Environ.*



IX Congreso del Departamento de Sistemas Biológicos



Chem. Lett., 2018, **16**, 1361–1375.

- 3 G. Gonzalez-Gaitano, J. R. Isasi, I. Velaz and A. Zornoza, *Curr. Pharm. Des.*, 2017, **23**, 411–432.
- 4 A. Rahmani, M. Alsahli, S. Aly, M. Khan and Y. Aldebasi, *Adv. Biomed. Res.*, 2018, **7**, 38.

CRIBADO VIRTUAL DE LA BASE DE DATOS N-015 CONTRA UREASA DE *H. PYLORI* PARA EL DESCUBRIMIENTO DE NUEVOS FÁRMACOS

Jovita Lucero Ruiz Garcia¹, Karen Rodríguez Villar¹, Juan Francisco Palacios Espinosa¹, Juan Francisco Cortés Benítez¹, Olivia Soria Arteché¹, Jaime Pérez Villanueva^{1,*}

¹Departamento de Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (UAM-X), Ciudad de México 04960, México.

*Autor de correspondencia: Jaime Pérez Villanueva

Correo: jpvillanueva@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Acoplamiento molecular, Cribado virtual, *Helicobacter pylori*, Ureasa.

INTRODUCCIÓN

Helicobacter pylori es una bacteria que infecta las mucosas intestinales provocando patologías graves como úlceras gástricas y duodenales, linfoma de tejido asociado a mucosas y adenocarcinoma gástrico. Por ello, esta infección se cataloga como un problema de salud pública a nivel mundial.¹

La ureasa es una enzima asociada a los factores de virulencia de *H. pylori* en el metabolismo bacteriano y la colonización dentro de la mucosa gástrica, siendo la proteína más expresada por esta bacteria. La función de la ureasa es catalizar el proceso de hidrólisis de la urea a amoníaco y ácido carbónico. *H. pylori* puede sobrevivir al ácido gástrico mediante la utilización de ureasa para producir grandes cantidades de amoníaco y aumentar el pH.² El tratamiento disponible contra la infección de *H. pylori* incluye el uso de antibióticos.¹ Los fármacos utilizados para bacterias productoras de ureasa incluyen complejo de bismuto, fosforamidatos, derivados de imidazol y ácidos hidroxámicos.³ Sin embargo, la resistencia y los efectos secundarios es un factor limitante, debido a esto, se requiere el diseño de nuevas moléculas bioactivas.

En nuestro grupo de investigación se cuenta con una quimioteca de compuestos (N-015), donde algunos compuestos tienen actividad antimicrobiana, antiprotozoaria y anticancerígena, por lo que se llevó a cabo un estudio *in silico* de cribado virtual por acoplamiento molecular empleando dos *softwares* diferentes. A partir de los resultados obtenidos, se diseñaron nuevas moléculas como potenciales inhibidores de la ureasa de *H. pylori*.

OBJETIVOS

Identificar compuestos de la base de datos N-015 por acoplamiento molecular como potenciales inhibidores de ureasa y diseñar derivados con mejor afinidad *in silico*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo de este trabajo se utilizó la base de datos N-015 con 208 moléculas y el complejo ácido acetohidroxámico-ureasa (4UBP) obtenida de *Protein Data Bank*. La minimización de la proteína fue realizada en *YASARA Energy Minimization server* y para los ligandos se utilizó el software Avogadro. El acoplamiento molecular se realizó utilizando

dos softwares, Autodock Vina y Gold, sobre el sitio de unión del ligando cristalizado. Los métodos fueron validados por reacomplamiento del ligando cristalizado y el cálculo de RMSD a 25 ciclos para cada programa. La visualización y análisis de los resultados se llevó a cabo en Pymol y Discovery Studio Visualizer.

Se seleccionaron las ocho moléculas con los mejores valores de afinidad obtenidos en ambos programas y con mayor número de interacciones entre la enzima y el ligando estudiado. A partir de las estructuras encontradas por cribado virtual, se diseñaron cincuenta moléculas por combinación de características estructurales y reemplazo bioisostérico. Posteriormente, estas estructuras fueron evaluadas por acoplamiento molecular y se seleccionaron las moléculas con los mejores valores de afinidad.

RESULTADOS

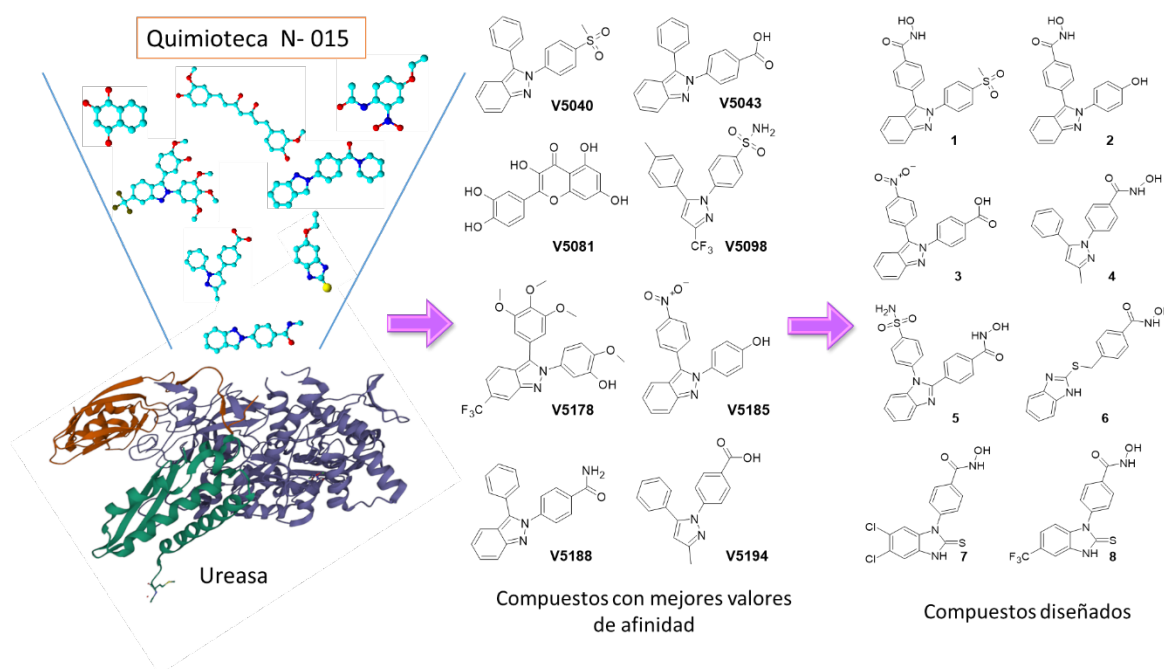


Figura 1. Compuestos seleccionados por cribado virtual y diseñados por combinación de subestructuras.

En la Figura 1 se muestran las estructuras de los ocho compuestos seleccionados por cribado virtual, donde se puede observar que los núcleos predominantes son el indazol y el pirazol. Este resultado es interesante puesto que se han reportado derivados de indazol con actividad sobre varias cepas bacterianas grampositivas y gramnegativas.⁵ Por otro lado, los compuestos con el núcleo pirazol como el celecoxib desempeñan un papel importante en el tratamiento contra *H. pylori* pues mejora las lesiones precancerosas gástricas al inhibir la actividad de la COX-2.⁴

Dado los resultados obtenidos y lo descrito en la literatura, se diseñaron 50 nuevas moléculas, de las cuales se muestran algunas en la Figura 1. Los núcleos de indazol y bencimidazol resultaron interesantes ya que se obtuvieron compuestos con alta afinidad *in silico*. Además, se ha reportado que algunos derivados de bencimidazol tienen actividad inhibitoria contra la ureasa.²

En las Tablas 1 y 2 se describen los valores de afinidad para las moléculas seleccionadas por cribado virtual de la quimioteca, así como las moléculas diseñadas con los mejores valores de afinidad. Como se puede observar, todos los compuestos superan el valor calculado para el compuesto de referencia ácido acetohidroxámico (AHA), lo que sugiere que estos compuestos podrían ser buenos candidatos para estudios *in vitro* contra ureasa.

De manera particular, los compuestos propuestos también obtuvieron valores de afinidad superiores a los observados para AHA y muy similares a los compuestos seleccionados por cribado. Sin embargo, se esperaba que estos compuestos obtuvieran valores más altos que los obtenidos de la quimioteca, ya que algunos de estos son compuestos híbridos de aquellos con mejores valores de afinidad. Además, en algunos casos se agregó un sustituyente derivado del ácido acetohidroxámico, aprovechando que este es un bioisómero del ácido carboxílico sin mejoras importantes. No obstante, los resultados son bastantes alentadores y podrían ser posibles candidatos para pruebas *in vitro* contra ureasa de *H. Pylori*.

Tabla 1. Resultados obtenidos para los mejores compuestos de la quimioteca N-015

COMPUESTO	VINA (ΔG)	SCORE GOLD
AHA	-4.6 (RMSD = 0.555)	36.56 (RMSD = 0.841)
V5040	-8.5	64.92
V5043	-9.0	86.43
V5081	-8.4	68.21
V5098	-8.4	72.87
V5178	-8.3	69.57
V5185	-8.4	69.13
V5188	-8.2	67.84

V5194	-8.4	85.46

Tabla 2. Resultados de acoplamiento molecular para los mejores compuestos diseñados

COMPUESTO	VINA (ΔG)	SCORE GOLD
AHA	-4.6	36.56
1	-8.6	68.86
2	-9.2	66.07
3	-8.2	69.9
4	-8.4	70.49
5	-8.4	79.67
6	-8.2	69.93
7	-8.7	67.87
8	-8.5	68.09

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se logró realizar un cribado virtual de la base de datos del laboratorio N-015 contra la enzima ureasa y a partir de los compuestos seleccionados se diseñó una serie de nuevos compuestos novedosos como potenciales inhibidores. Los compuestos propuestos obtuvieron valores de afinidad superiores al compuesto de referencia y estos resultados nos alientan a ampliar los estudios de estas moléculas como posibles inhibidores contra ureasa de *H. pylori*.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pohl D, Keller PM, Bordier V, Wagner K. *World J Gastroenterol.* **2019**, 25, 4629-4660.
2. Mohammed SO, El Ashry SHE, Khalid A, Amer MR, Metwaly AM, Eissa IH, Elkaeed EB, Elshobaky A, Hafez EE. *Molecules.* **2022**, 27, 865.
3. Kataria R, Khatkar A. *BMC Chem.* **2019**, 13, 45.
4. Zhang LJ, Wang SY, Huo XH, Zhu ZL, Chu JK, Ma JC, Cui DS, Gu P, Zhao ZR, Wang MW, Yu J. *World J Gastroenterol.* **2009**, 15, 2731-2738.

EXPLORACIÓN DEL BORDE DIFUSO ENTRE SENOLÍTICOS Y SENMÓRFICOS CON QUIMIOINFORMÁTICA Y FARMACOLOGÍA DE SISTEMAS

Kevin Samael Olascoaga-Del Angel^{1,2}, Humberto Gutierrez³, Mina Königsberg², Jaime Pérez Villanueva^{4,*}, Norma Edith López-Diazguerrero^{2,*}

¹Posgrado en Biología Experimental, DCBS, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, Ciudad de México, México

²Laboratorio de Bioenergética y Envejecimiento Celular, Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Ciudad de México 09340, México

³Instituto Nacional de Medicina Genómica, Ciudad de México, México

⁴Departamento de Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (UAM-X), Ciudad de México 04960, México

*Autores de correspondencia: jpwillanueva@correo.xoc.uam.mx, norm@xanum.uam.mx

Palabras clave: Senescencia, Senolíticos, Senomórficos, SCAPs, SASP

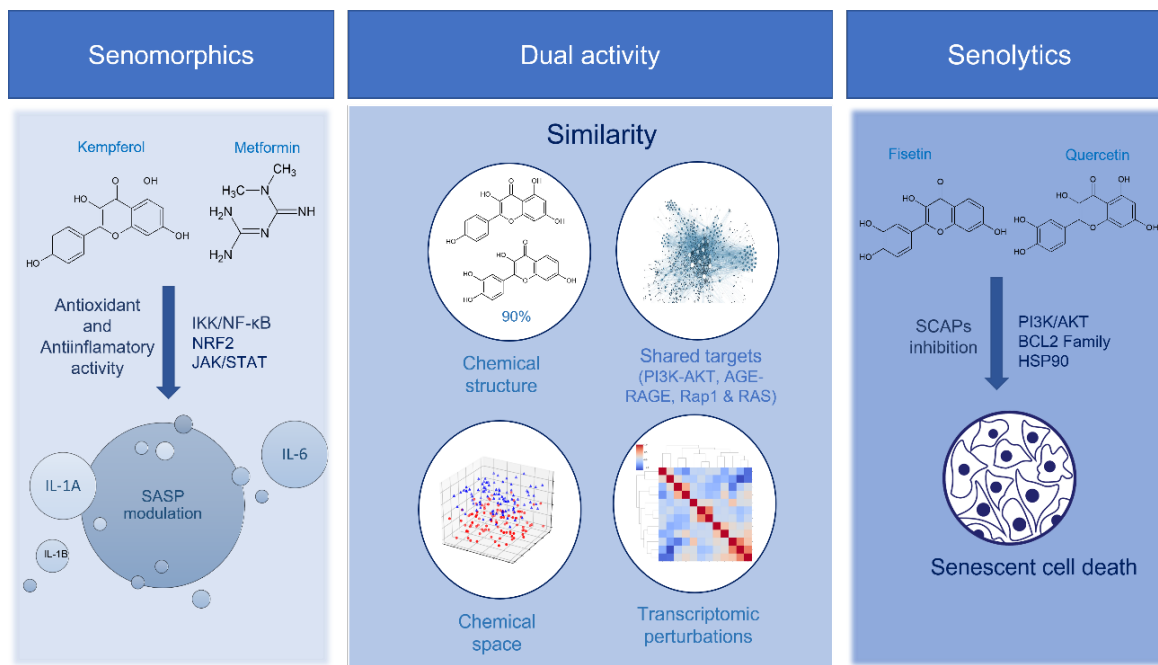
INTRODUCCIÓN

La senescencia celular (SC) es un estado de detención irreversible del ciclo celular en respuesta a diversos agentes estresores que ocasiona numerosas alteraciones a nivel morfológico y molecular. Entre las principales alteraciones se encuentran el desarrollo de múltiples vías de supervivencia y resistencia a la muerte celular (SCAPs) y la secreción de moléculas proinflamatorias, factores de crecimiento y metaloproteinasas que componen el fenotipo secretor asociado a la senescencia (SASP) [1]. Las células senescentes (CS) se acumulan en los órganos y tejidos y han sido relacionadas con la aparición y progresión de diversas enfermedades crónico-degenerativas asociadas con el envejecimiento e incluso con el cáncer [2, 3].

La senoterapia es un enfoque farmacológico emergente que combate la acumulación de CS utilizando moléculas de origen sintético y natural con actividad antioxidante, antiinflamatoria y antineoplásica llamadas senolíticos y senomórficos [4]. Los senolíticos son moléculas capaces de inducir muerte celular de manera selectiva a las CS mediante la inhibición de diversos SCAPS. Los senomórficos son moléculas que modulan o inhiben la producción de componentes del SASP sin inducir muerte celular además de reducir la expresión de marcadores de senescencia como p16, p21 o células positivas a la actividad β -galactosidasa (SA- β -gal). A pesar de ser un campo bastante nuevo ya se están realizando ensayos clínicos con agentes senoterapéuticos [5]. Sin embargo, una cuestión sin resolver es como diferenciar un senolítico de un senomórfico, ya que compuestos naturales como el flavonoide fisetina, el alcaloide piperonglumina y el antibiótico roxitromicina tienen ambos efectos in-vitro.

Explorar las propiedades que definen si una molécula exhibirá actividad senolítica, senomórfica o ambas.

MATERIALES Y MÉTODOS



RESULTADOS

En este trabajo realizamos una exploración guiada por herramientas quimioinformáticas y de farmacología de sistemas para determinar cuáles son las propiedades estructurales, fisicoquímicas, farmacológicas y transcriptómicas que definen si una molécula exhibirá actividad senolítica, senomórfica o ambas. Un ejemplo se muestra en la Figura 1, donde se comparan algunos descriptores moleculares entre senolíticos y senomórficos. Por otra parte, se muestra en la Figura 2 un mapa de calor y clustering jerárquico de la similitud química entre ambos grupos de senolíticos y senomórficos. En estos ejemplos se destaca la amplia similitud química entre ambos grupos, este es un resultado interesante ya que los términos seolíticos y senomórficos corresponden más a un efecto biológico concreto que a una clasificación química. Las similitudes fisicoquímicas y estructurales se ven reflejadas en las propiedades farmacológicas y la similitud de la respuesta celular medida mediante perturbaciones del transcriptoma, sin embargo, empleando farmacología de sistemas podemos identificar las vías de señalización y blancos farmacológicos preferenciales para cada efecto (inducción de muerte selectiva o modulación del SASP). También hemos podido identificar estructuras químicas (núcleos base) privilegiadas con la actividad senoterapéutica deseada, abriendo de esta manera el camino para el diseño racional y la síntesis de nuevos agentes senoterapéuticos con la actividad deseada, por otra parte, logramos identificar la duración de la terapia como característica importante para lograr el efecto farmacológico

deseado, tratamientos cortos generan efecto senolítico mientras que los de mayor duración efecto senomórfico.

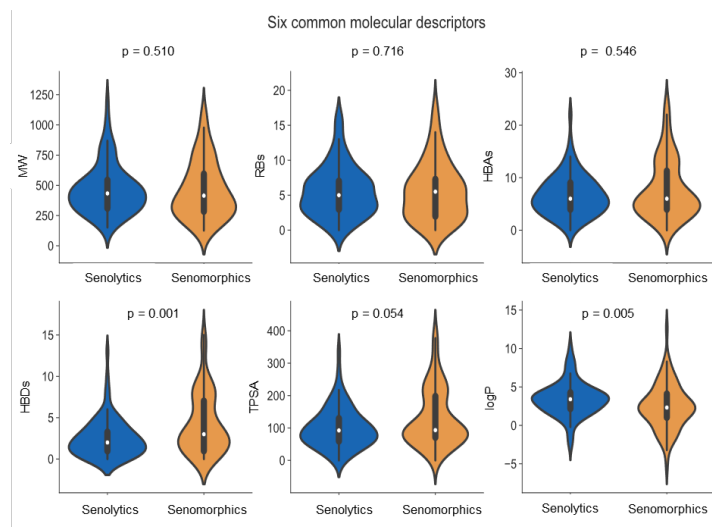


Figura 1. Gráficos de violín y análisis estadístico de seis descriptores moleculares de importancia farmacéutica como peso molecular (MW), número de enlaces rotables (RBs), aceptores de enlaces de hidrogeno (HBAs), donadores de enlaces de hidrogeno (HBDS), área de superficie polar topológica (TPSA) y el coeficiente de reparto octanol / agua (logP).

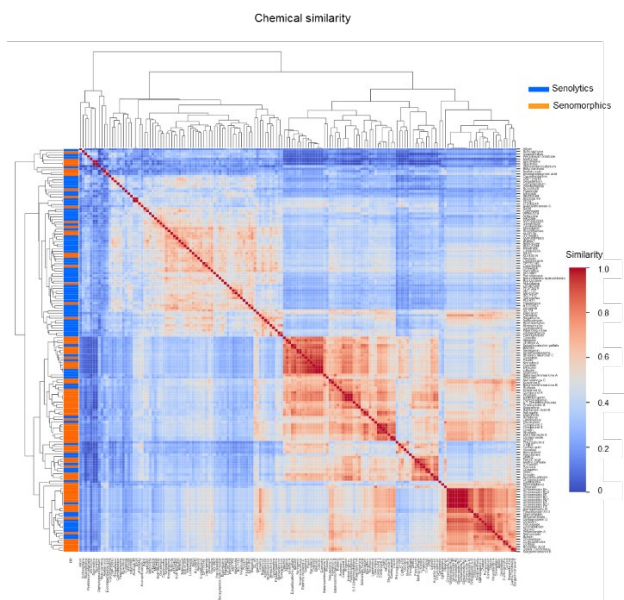


Figura 2. Mapa de calor y clustering jerárquico de la similitud química de senolíticos y senomórficos medida con el fingerprint 2D MACCS 166 y el coeficiente de Tanimoto. La intrasimilitud media para senolíticos es de 0.430 mientras que para senomórficos 0.472, la intersimilitud media de senolíticos y senomórficos es de 0.429.

CONCLUSIONES

El horizonte entre actividad senolítica y senomórfica es difuso debido a que ambos tipos de moléculas comparten grandes similitudes en sus propiedades fisicoquímicas, estructurales y farmacológicas que se ven reflejadas en la respuesta celular medida mediante perturbaciones transcriptómicas. Es importante tener en cuenta estas similitudes al buscar o diseñar nuevos agentes senoterapéuticos empleando métodos como búsqueda por similitud estructural, similitud de blancos farmacológicos y cribado virtual basado en estructura sobre todo teniendo como blanco SCAPs pues es muy probable que la sola inhibición farmacológica de una de estas proteínas no sea suficiente para inducir muerte celular a las CS.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Herranz, N., & Gil, J. (2018). Mechanisms and functions of cellular senescence. *The Journal of clinical investigation*, 128(4), 1238–1246. <https://doi.org/10.1172/JC195148>
- [2] Childs, B. G., Durik, M., Baker, D. J., & van Deursen, J. M. (2015). Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy. *Nature medicine*, 21(12), 1424–1435. <https://doi.org/10.1038/nm.4000>
- [3] van Deursen J. M. (2014). The role of senescent cells in ageing. *Nature*, 509(7501), 439–446. <https://doi.org/10.1038/nature131937>
- [4] Kim, E. C., & Kim, J. R. (2019). Senotherapeutics: emerging strategy for healthy aging and age-related disease. *BMB reports*, 52(1), 47–55. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2019.52.1.293>
- [5] Hickson, L. J., Langhi Prata, L., Bobart, S. A., Evans, T. K., Giorgadze, N., Hashmi, S. K., Herrmann, S. M., Jensen, M. D., Jia, Q., Jordan, K. L., Kellogg, T. A., Khosla, S., Koerber, D. M., Lagnado, A. B., Lawson, D. K., LeBrasseur, N. K., Lerman, L. O., McDonald, K. M., McKenzie, T. J., Passos, J. F., ... Kirkland, J. L. (2019). Senolytics decrease senescent cells in humans: Preliminary report from a clinical trial of Dasatinib plus Quercetin in individuals with diabetic kidney disease. *EBioMedicine*, 47, 446–456. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.08.069>

QUIMIOTECA N015 Y SU APLICACIÓN EN ESTUDIOS DE CRIBADO VIRTUAL

Karen Rodríguez Villar¹, Gabriela Karen Reyes Arteaga¹, Francisco Cortés Benítez¹, Juan Francisco Palacios Espinosa¹, Olivia Soria Arteché¹, Jaime Pérez Villanueva^{1*}

¹Laboratorio de síntesis y aislamiento de sustancias bioactivas, Departamento de Sistemas Biológicos, UAM-Xochimilco, México.

*Autor de correspondencia: Jaime Pérez Villanueva; Correo: jpvillanueva@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: cribado virtual, quimioteca, quimioinformática.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de técnicas computacionales ha contribuido decisivamente al análisis y filtrado eficiente de colecciones de compuestos (quimiotecas) para seleccionar moléculas para evaluación experimental, así como a la generación de hipótesis para ayudar a entender el mecanismo de acción de fármacos y al diseño de nuevas estructuras químicas.^{1,2}

Particularmente, el cribado virtual de quimiotecas permite analizar el potencial farmacológico de compuestos diseñados para distintas aplicaciones e identificar nuevos *hits*, a través del acoplamiento molecular.²⁻⁴ Actualmente, existen una gran cantidad de quimiotecas públicas y privadas que pueden o no incluir reportes de actividad biológica y son usadas para la búsqueda de nuevos fármacos.⁵ No obstante, los compuestos en dichas colecciones no siempre están disponibles o son de acceso limitado.

En nuestro laboratorio se ha construido a la fecha una quimioteca (N015 v6) con más de 250 compuestos de estructuras diversas, la cual se ha empleado para la búsqueda de inhibidores de blancos terapéuticos de interés como tubulina, COX-2, PARP1, ureasa, GABA_A, entre otros, teniendo resultados prometedores en la identificación de candidatos a ensayos *in vitro* y para el diseño de nuevos derivados. El presente trabajo busca describir la quimioteca N015 y su aplicación en la búsqueda de potenciales inhibidores de PARP1, blanco asociado con cáncer de mama.

OBJETIVO Describir la aplicación de la quimioteca N015 en la búsqueda de inhibidores de PARP1 empleando cribado virtual por acoplamiento molecular.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diversidad estructural: Para el desarrollo de este trabajo se utilizó la quimioteca N015 v5 con 208 moléculas, las cuales fueron analizadas en el programa *DataWarrior* para la generación de quimiotipos, análisis de diversidad estructural y determinación de siete descriptores de interés farmacéutico.

Cribado virtual por acoplamiento molecular: Se utilizó el complejo PARP-olaparib (PDB: 7KK4) recuperado de *ProteinDataBank*. La proteína fue minimizada y preparada en *Chimera* usando el campo de fuerza AMBERff14SB y los ligandos fueron construidos y optimizados a partir de los códigos SMILES en los programas *ChemSketch* y *Avogadro*. El acoplamiento molecular se realizó utilizando tres programas Autodock Vina, Autodock 4.2 y Gold sobre el sitio de unión del ligando cristalizado (olaparib). Los métodos fueron validados por reemplazamiento del ligando cristalizado y el cálculo de RMSD para cada programa. La

visualización y análisis de los resultados e interacciones ligando-receptor en 2D se llevaron a cabo en *Pymol*, *Discovery Studio* y *AutoDock Tools*.

Diseño de nuevos inhibidores: A partir de las moléculas encontradas por cribado virtual y la estructura del ligando olaparib se diseñaron nuevos derivados por combinación de grupos funcionales. Los compuestos propuestos fueron evaluados *in silico* sobre PARP1 usando AutoDock Vina.

RESULTADOS

Se generaron los quimiotipos para los compuestos de la quimioteca N015, encontrando 63 quimiotipos, de los cuales tres de ellos contienen el núcleo indazol (Q001–Q003) y representan al 47.07% de la quimioteca, Figura 1. No obstante, es importante mencionar que resto de la quimioteca incluye núcleos como triterpenos, pirazoles, chalconas, quinolonas, entre otros. Adicionalmente, con los descriptores calculados se realizó una representación del espacio químico y se comparó contra fármacos aprobados (Figura 2), encontrando que la quimioteca ocupa una región limitada en comparación a los fármacos aprobados, lo cual nos insta a incrementar la diversidad de la quimioteca para ampliar su potencial y las probabilidades de éxito en la búsqueda de compuestos bioactivos.

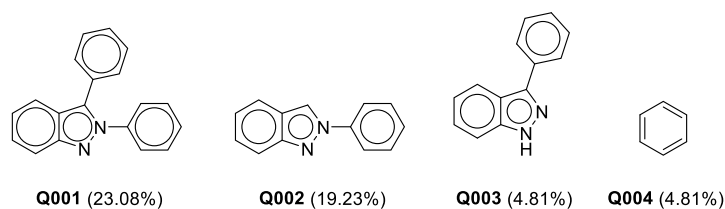


Figura 1. Quimiotipos más frecuentes en la quimioteca N015.

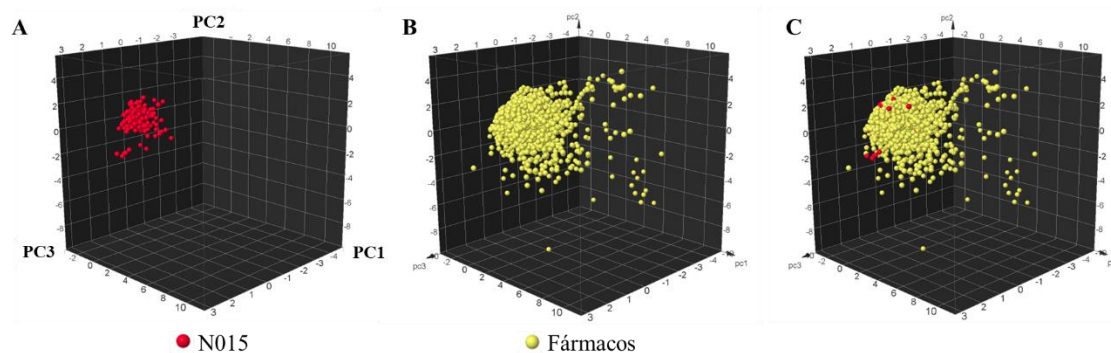


Figura 2. Representación del espacio químico. (A) Quimioteca N015; (B) Fármacos; (C) Representación conjunta.

Con la finalidad de evaluar la utilidad de la quimioteca N015, se realizó un cribado virtual sobre la enzima PARP1 empleando los tres programas. Los tres métodos fueron validados con $RMSD < 2.0 \text{ \AA}$. Se identificaron los modos de unión con mejores valores de afinidad sobre el sitio de unión para cada molécula en los tres programas. Posteriormente, se realizó una normalización de los datos para ajustar los valores entre 0 y 1, donde 1 es la máxima afinidad, y se seleccionaron aquellas moléculas con valores normalizados ≥ 0.7 en todos los programas. Se identificaron 20 compuestos como potenciales inhibidores de PARP1, los cuales en su mayoría son derivados de indazol y predominan aquellos con sustituyentes carboxamida. Este grupo funcional resulta interesante puesto que el compuesto de referencia

olaparib presenta un grupo piperazin carboxamida, lo cual sugiere que los compuestos podrían tener interacciones similares en el sitio de unión, Figura 3.

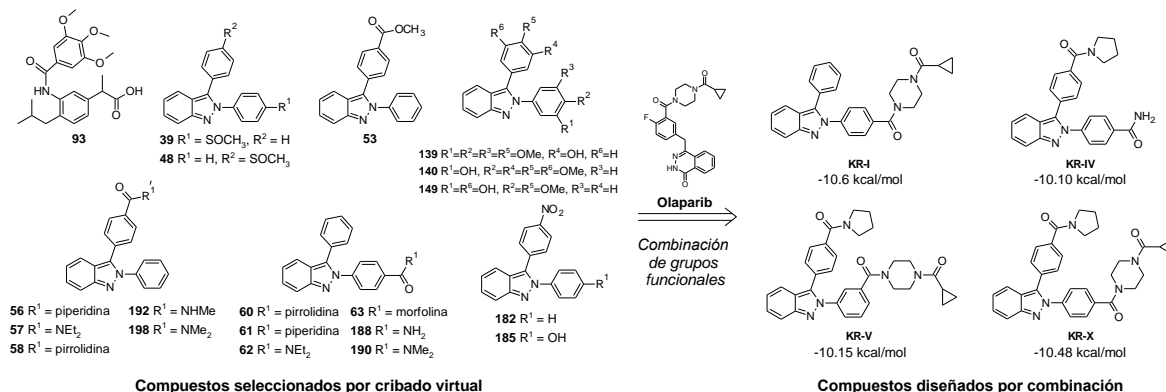


Figura 3. Compuestos seleccionados por cribado virtual y compuestos propuestos como inhibidores de PARP1.

A partir de la información obtenida anteriormente, se diseñó una serie de 17 derivados empleando la combinación de las carboxamidas de 2,3-difenil-2(*H*)indazol y el olaparib. Estos compuestos propuestos fueron evaluados *in silico* sobre PARP1 empleando AutoDock Vina. Se encontró que cuatro de estos compuestos tienen valores de afinidad muy cercanos al ligando olaparib pero no superiores. No obstante, son ligeramente superiores a los valores obtenidos por sus predecesores, Figura 3. Estas moléculas servirán como compuestos de referencia para diseñar nuevos inhibidores de PARP1. Por otro lado, al ser derivados de compuestos presentes en la quimioteca, estos pueden ser fácilmente sintetizados por las metodologías descritas en nuestro grupo.

Con lo anterior, se muestra el potencial de emplear la quimioteca para la búsqueda de nuevos líderes, que puedan ser usados para el diseño de nuevas moléculas más afines al blanco terapéutico de interés, optimizando el tiempo y los recursos del laboratorio al disminuir el número de compuestos a sintetizar y evaluar *in vitro*.

CONCLUSION

La quimioteca N015 es una fuente de compuestos con potencial farmacológico, que puede ser empleada para la búsqueda y diseño de nuevas moléculas bioactivas. Los resultados obtenidos son muestra de la amplia versatilidad de la quimioteca, donde se han encontrado compuestos interesantes que se han llevado a evaluación *in vitro* con resultados prometedores. Asimismo, la quimioteca ha servido como inspiración para el diseño de nuevos compuestos con mejores probabilidades de éxito. Además, es una estrategia eficiente para aprovechar al máximo los compuestos generados por diversos proyectos anteriores y favorecer la colaboración con otros grupos de investigación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Saldívar-González, F.; Prieto-Martínez, F.D.; Medina-Franco J.L. *Educación Química*, **2017**, 28, 51-58
2. Prieto-Martínez F. D.; Medina-Franco J. L. *TIP*, **2018**, 21, e201826.
3. Kapetanovic, I. M. *Chem. Biol. Interact.*, **2008**, 171(2), 165-176.
4. Macalino, S. J. Y.; Gosu, V.; Hong, S.; Choi, S. *Arch. Pharm. Res.*, **2015**, 38(9), 1686-1701.
5. Nicola, G.; Liu, T.; Gilson, M. K. *J Med Chem.*, **2012**, 55(16), 6987-7002.

SÍNTESIS DE CALIXARENOS CON NÚCLEO DE FURANO CON POTENCIAL ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA Y ANTICANCERÍGENA

*Espinoza-Aranda, Malco I.; Martell-Mendoza, Miguel; Arias, Lucina;
Pérez-González, Cuauhtémoc; Méndez-Cuesta, Carlos A.*

Correo: cmendez@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: *Calixarenos, furano, síntesis*

INTRODUCCIÓN:

Los calixarenos son compuestos macrocíclicos sintéticos que se obtienen por ciclocondensación de aldehídos y pirroles, los cuales poseen cavidades lipofílicas intramoleculares formadas por los anillos aromáticos del esqueleto macrocíclico. Los calixarenos de este tipo son conocidos como porfirinas. Muestran una capacidad única de reconocer y unirse a cationes, aniones y moléculas neutras del tamaño adecuado. Algunas porfirinas pueden contener un átomo metálico en el centro unido mediante enlaces de coordinación, como es el caso del grupo hemo de la hemoglobina, la clorofila y la vitamina B12. Estas propiedades abren amplias perspectivas de aplicación práctica de los calixarenos en diferentes ramas de la química, la física y la biología. Las diversas aplicaciones biomédicas de estas moléculas incluyen actividades antibacterianas, anticancerígenas, antivirales, antitrombóticas, actividades membranotrópicas, bloqueo selectivo de enzimas y bloqueo de imitación de enzimas, así como en la complejación de proteínas. Los calixarenos tienen diversas propiedades que pueden ser importantes para remediar muchas enfermedades. Debido a la diversidad de actividades biológicas y propiedades tanto físicas como químicas de estos compuestos, la comunidad científica se ha interesado en su estudio desde hace años.

Algunas variantes de estas porfirinas pueden ser compuestos macrocíclicos formados por anillos de furano unidos entre sí por puentes metino, tomando como base que el furano y el pirrol tienen propiedades electrónicas similares, los cuales pueden mejorar la actividad o mejorar sus propiedades de solubilidad y biodisponibilidad.

OBJETIVO (S):

-Sintetizar calixarenos a partir de furano y diversos aldehídos para evaluar su actividad farmacológica.

Identificar la estructura de los calixarenos mediante espectrometría UV-visible, infrarrojo, Resonancia Magnética Nuclear y espectroscopía de masas.

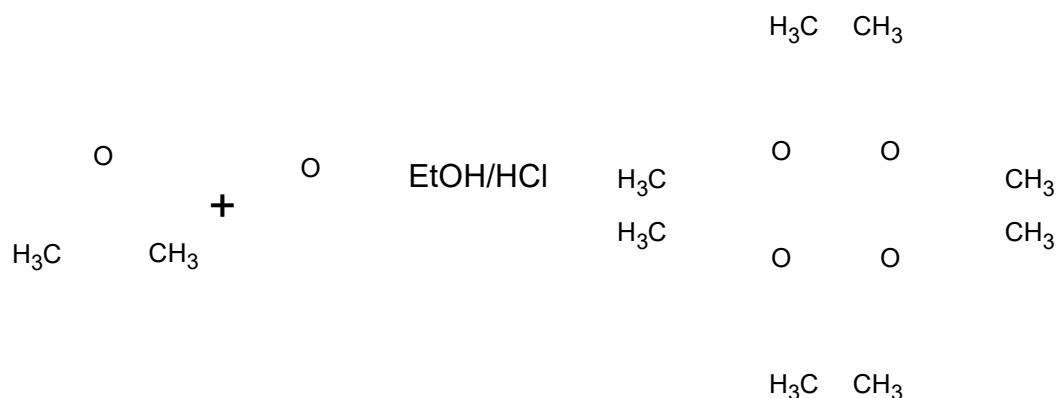
Realizar estudios de acoplamiento molecular con los derivados de tiofeno para predecir los sitios de unión a diversos blancos terapéuticos.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Para la preparación de las diferentes porfirinas que se empleó la metodología diseñada por Adler-Longo. Todas las estructuras de los compuestos se determinaron mediante RMN de protón y carbono. El seguimiento de las reacciones y el análisis de la pureza de los productos obtenidos se realiza mediante la técnica de cromatografía en capa fina (CCF) empleando placas de vidrio recubiertas con gel de sílice. La visualización de los productos se hace con ayuda de luz ultravioleta.

RESULTADOS:

Se realizó una recristalización por par de disolventes empleando etanol y benceno. Se obtuvieron 47.5 mg de un sólido color ligeramente amarillo, con un rendimiento del 0.144%, con un punto de fusión de 115-117°C. Una muestra se analizó por RMN para determinar su estructura.



BIBLIOGRAFÍA:

1. Español, E. S., & Villamil, M. M. (2019). Calixarenes: Generalities and their role in improving the solubility, biocompatibility, stability, bioavailability, detection, and transport of biomolecules. *Biomolecules*, 9(3), 90. <https://doi.org/10.3390/biom9030090>
2. Gutsche, C. D., & Levine, J. A. (1982). Calixarenes. 6. Synthesis of a functionalizable calix[4]arene in a conformationally rigid cone conformation. *Journal of the American Chemical Society*, 104(9), 2652–2653. <https://doi.org/10.1021/ja00373a060>
3. Kumar, S., Paul, D., & Singh, H. (2007). Syntheses, Structures and Interactions of Heterocalixarenes. *ChemInform*, 38(5). <https://doi.org/10.1002/chin.200705232>



Casa abierta al tiempo

IX Congreso del Departamento de Sistemas Biológicos



4. Calixarenes containing modified meso bridges. (2014). ARKIVOC, 2015(1), 29.
<https://doi.org/10.3998/ark.5550190.p008.753>

ESTUDIO DE LA RELACIÓN CUANTITATIVA ESTRUCTURA ACTIVIDAD DE LOS FENAMATOS Y SALICILATOS: MAGNÍFICA HERRAMIENTA PARA EL DISEÑO DE NUEVOS ANTIINFLAMATORIOS DERIVADOS DEL ÁCIDO N-ARILMALEÁMICO

Eric Suriel Cruz Ruiz¹, Ariadna Dehonor Contreras¹, Juan Alberto Guevara Salazar^{1}.*

¹Departamento de Farmacología. Escuela Superior de Medicina-IPN. Plan de San Luis y Salvador Díaz Mirón s/n, Col. Santo Tomás, C.P.11340, Ciudad de México.

**Autor de correspondencia*

Correo: jguevaras@ipn.mx

Palabras clave: Antiinflamatorio, dolor, salicilatos, QSAR, fenamatos.

INTRODUCCIÓN:

El dolor y la inflamación son respuestas protectoras del organismo ante factores o condiciones nocivas, debido a esta naturaleza también pueden condicionar lesión (inflamación) y/o afectar la calidad de vida (dolor) de quienes las padecen.

El dolor y la inflamación están presentes en una amplia gama de patologías y su incidencia y prevalencia va en aumento, representando un problema de salud pública a nivel mundial.

El dolor es uno de los motivos de consulta más frecuentes en todos los niveles de atención. Afecta a la mayoría de la población en algún momento a lo largo de la vida. Se estima que el 20% de los adultos sufren dolor en el mundo.¹

En nuestro país, de acuerdo con datos proporcionados por la Encuesta Nacional de los Hogares (ENH) 2017 del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), alrededor del 27% de las y los mexicanos mayores de 7 años presentaron dolor al menos una vez en los tres meses previos, con un total de casos de 109 289 853. El grupo más afectado fue el de 30 a 49 años con un total de 33 207 499.²

Según estimaciones realizadas en 2021 a partir de los datos obtenidos de la Encuesta Nacional sobre Salud y Envejecimiento en México (ENASEM) 2018, 57.5% de los hombres y 70.3% de las mujeres de 75 años o más con autonomía limitada en actividades básicas de la vida diaria (ABVD) sufren algún tipo de dolor físico (Figura 3). En este mismo estudio, el 49.0% de los hombres y el 70.1% de las mujeres de 75 años o más con autonomía limitada para las actividades instrumentales de la vida diaria (AIVD) reportaron sufrir algún tipo de dolor (Figura 4).³

Existen diversos medicamentos para tratar el dolor y la inflamación, gracias al descubrimiento de Jonh Vane, en 1971, sobre el mecanismo de acción de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) conocidos en esa época, hoy en día los AINEs son de los fármacos más utilizados para tratar ambas condiciones en conjunto. Los AINEs actúan inhibiendo a la ciclooxigenasa (COX), enzima clave en el metabolismo del ácido araquidónico, y cuyos productos están relacionados con funciones proinflamatorias y homeostáticas; por lo tanto, dicha inhibición está relacionada tanto con los efectos

terapéuticos, como con algunos de sus efectos adversos. Justamente, debido a estos efectos adversos que se presentan por el consumo de los AINEs es que su uso prolongado se encuentra limitado y en muchas ocasiones justifica el mal apego y abandono del tratamiento por parte del paciente.

En el presente trabajo se pretende contribuir en el diseño de nuevos compuestos bajo un análisis de relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR) predictivo que ofrezca una alternativa de tratamiento eficaz y segura. Se proponen seis derivados del ácido *N*-arilmaleámico con cercanía estructural al ácido antranílico como bioisómeros de los fenamatos y salicilatos.

OBJETIVO (S):

Estimar la actividad biológica de los aductos Diels-Alder derivados del ácido antranílico a través de un estudio predictivo de SAR/QSAR.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se realizó el estudio *in silico* de los fármacos control y de los aductos Diels-Alder derivados del ácido antranílico tanto por métodos empíricos como por métodos teóricos.

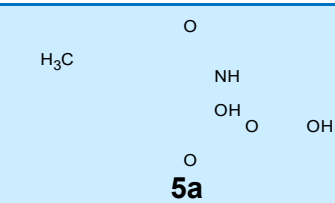
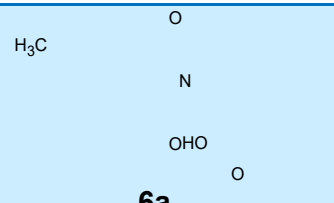
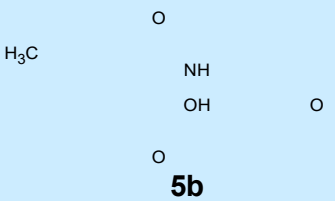
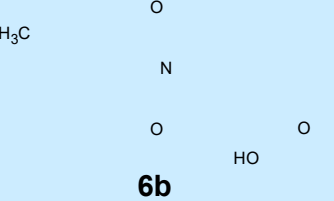
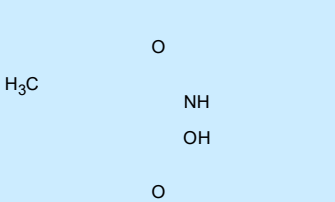
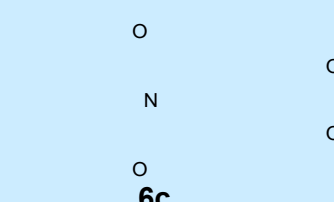
Para los fármacos control se eligieron aquellos que están relacionados estructuralmente con los aductos Diels-Alder propuestos:

- Ácido salicílico
- Ácido acetilsalicílico
- Ácido mefenámico
- Ácido meclofenámico
- Ácido niflúmico
- Ácido flufenámico
- Ácido tolfenámico

Se realizó el estudio *in silico* de los 6 aductos Diels-Alder propuestos, los 3 derivados de la serie 5 y los 3 derivados de la serie 6 (**Tabla 1, Figura 1**):

- Serie 5: **5a**, **5b** y **5c**.
- Serie 6: **6a**, **6b** y **6c**.

Tabla 1. Aductos Diels-Alder derivados del ácido antranílico.

Serie 5	Serie 6
 <p>5a</p>	 <p>6a</p>
 <p>5b</p>	 <p>6b</p>
 <p>5c</p>	 <p>6c</p>

RESULTADOS:

Inicialmente se obtuvo la correlación entre los valores de IC₅₀ experimental in vitro contra COX-1, con la actividad biológica como inhibidor enzimático, obtenido en la plataforma de Molinspiration biological score. Este procedimiento sirvió para validar las actividades tanto experimentales, como las empíricas (**Figuras 2 y 3**).

Posteriormente, se realizaron correlaciones entre los valores de actividad empírica de los controles positivos con los compuestos **5a-c** y **6a-c** con distintas propiedades fisicoquímicas tanto para las formas neutras y formas ionizadas (**Tabla 2**).

Como puede ser observado, las mejores correlaciones ocurrieron con dos descriptores, el de tamaño (logMR y logV) y con un descriptor estructural (E_{geom}). Una vez obtenidas las correlaciones individuales, se realizó el análisis de obtención del modelo a través de una regresión lineal multiparamétrica por el método de determinantes, obteniéndose los siguientes modelos neutro e iónico respectivamente.

$$\text{Puntaje} = -3.720 - (2.445 * \log\text{MR}) + (3.345 * \log\text{V}) - (0.000278 * E_{geom})$$

$$N = 10, r = 0.9273, Q^2 = 0.8600, p < 0.05$$

$$\text{Puntaje} = -3.685 - (1.305 * \log\text{MR}) + (2.402 * \log\text{V}) - (0.000265 * E_{geom})$$

$$N = 10, r = 0.9055, Q^2 = 0.8200, p < 0.05$$



Figura 1. Diagrama de flujo de la metodología de investigación.

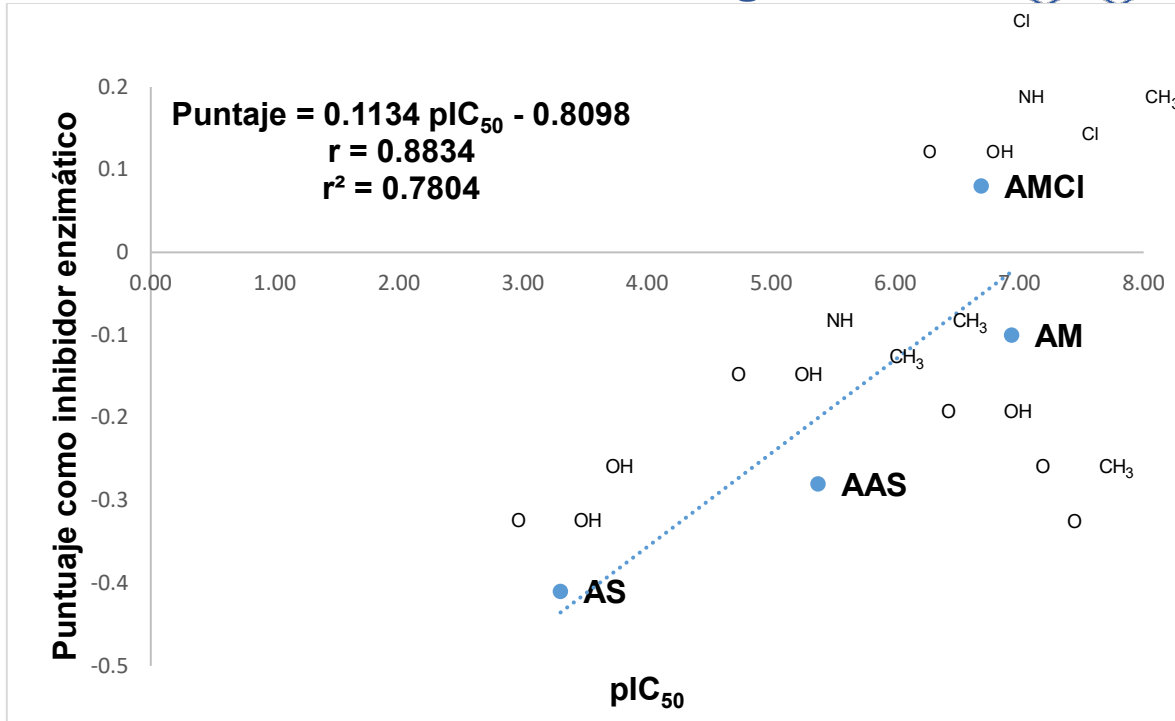


Figura 2. Correlación entre el puntaje como inhibidor enzimático y la pIC₅₀ de los controles en su forma neutra.
 AS: ácido salicílico, AAS: ácido acetilsalicílico, AM: ácido mefenámico y AMCI: ácido meclofenámico.

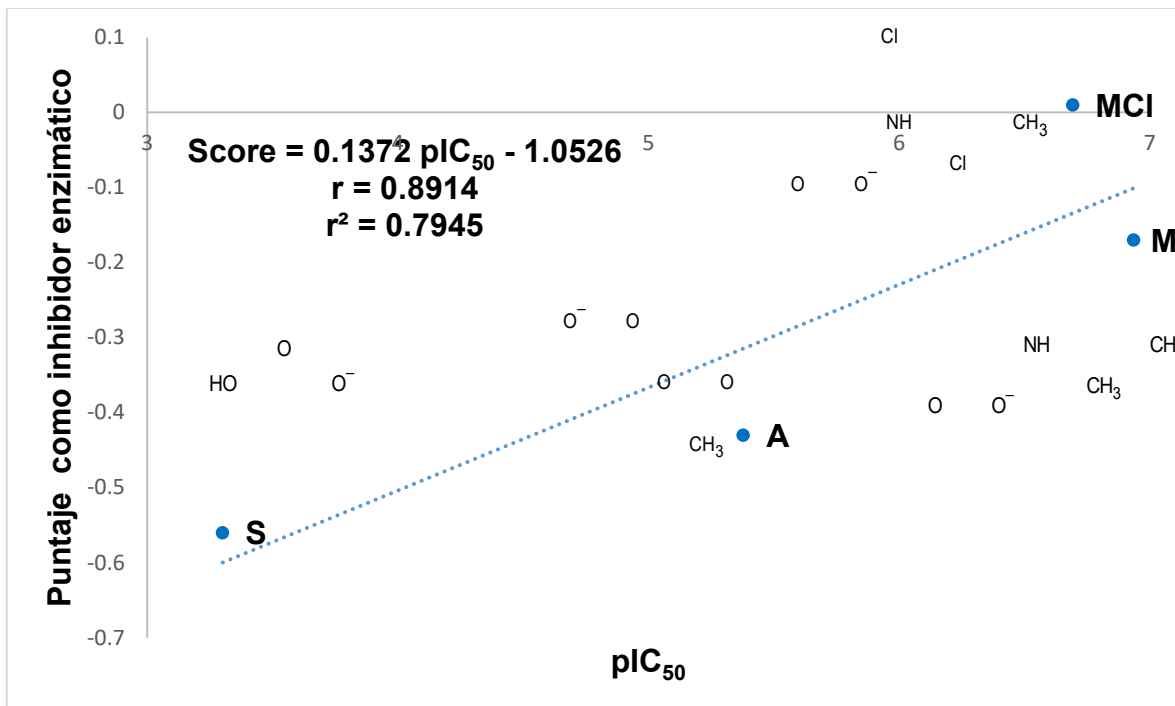


Figura 3. Correlación entre el puntaje como inhibidor enzimático y la pIC₅₀ de los controles positivos en su forma iónica.
 S: salicilato, A: acetilsalicilato, M: mefenamato y MCI: meclofenamato.

Tabla 2. Correlación de los descriptores de los compuestos en su forma neutra e iónica con la actividad biológica empírica como inhibidor enzimático.

Descriptor	Coefficiente de correlación para la serie neutra (<i>r</i>)	Coefficiente de correlación para la serie ionizada (<i>r</i>)
logMR (cm ³ /mol)	0.8950	0.9194
logV (Å ³)	0.9208	0.9442
<i>E</i> _{geom} (eV)	0.8014	0.8038
logP	0.3093	0.4323
logTPSA(Å ²)	0.6137	0.5938
p <i>K</i> _a	0.2764	0.4312
logD	0.3421	0.4674
logm (Debye)	0.3144	0.3769
<i>E</i> _{HOMO} (eV)	0.4918	0.0734
<i>E</i> _{LUMO} (eV)	0.3065	0.0905

CONCLUSIONES:

De acuerdo con los modelos QSAR obtenidos, se puede concluir que los compuestos propuestos **5a-c** y **6a-c** son sustancias que presentan un potencial alto como inhibidores de la COX-1 y que podrían presentar actividad antiinflamatoria y/o analgésica. Los modelos sugieren, independientemente de la forma neutra o iónica, que el aumento de la actividad biológica requiere una serie de características estructurales específicas; es decir, la actividad se ve favorecida si la molécula es más voluminosa, menos polarizable y más estable desde el punto de vista conformacional.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Goldberg, D. S., & McGee, S. J. Pain as a global public health priority. BMC public health. 2011; 11, 770. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-11-770>
2. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Encuesta Nacional de los Hogares (ENH) 2017 [Internet]. México. INEGI, 2017. Consultado 21 mayo de 2022. Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/programas/enh/2017/>
3. Barreto A.I. Análisis de la autonomía física de las personas de 75 años y más: Aproximación a partir del Estudio Nacional de Salud y Envejecimiento en México (ENASEM) 2018. México; febrero 2021 [Consultado 22 mayo 2022]. Disponible en: https://flacso.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1026/290/1/Barreto_AI.pdf

DISEÑO Y SÍNTESIS DE AMINAS TERCIARIAS COMO AGENTES CITOTÓXICOS INHIBIDORES DE TUBULINA

Diana Monserrat Roldán Marchán¹, Karen Rodríguez Villar², Francisco Cortes Benítez², Félix Matadamas Martínez², Juan Francisco Palacios Espinosa², Olivia Soria Arteché², Jaime Pérez-Villanueva^{2,*}

¹Maestría en Ciencias Farmacéuticas, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (UAM-X), 04510, Ciudad de México, México.

²Departamento de Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (UAM-X), 04510, Ciudad de México, México.

*Autor de correspondencia: Jaime Pérez Villanueva

Correo: jpvillanueva@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Acoplamiento molecular, actividad citotóxica, aminas terciarias, síntesis.

INTRODUCCIÓN

El cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo y una de las principales en México.^{1,2,3} Este engloba un grupo de enfermedades donde tienen en común un crecimiento y división incontrolada de las células.¹ Aunque existen algunos fármacos quimioterapéuticos en el mercado, generan efectos adversos como neurotoxicidad, emesis, nefrotoxicidad.⁴ Por esta razón, es de gran importancia la búsqueda de nuevas moléculas con actividad anticancerosa. Particularmente, nuestro grupo de investigación se ha enfocado en la búsqueda de agentes que actúen sobre los microtúbulos formados por α y β -tubulina (α/β T), uno de los blancos mayormente estudiados en las últimas décadas.⁵ En el presente trabajo se diseñaron nuevos compuestos a partir características estructurales presentes en la combretastatina A-4 integradas sobre aminas terciarias. Los compuestos fueron evaluados *in silico* empleando acoplamiento molecular contra la tubulina como blanco. Además, para seis de estos compuestos se describe su síntesis, caracterización estructural y la evaluación citotóxica.

OBJETIVO

Obtener aminas aromáticas derivadas de combretastatina A-4 con actividad citotóxica.

MATERIALES Y MÉTODOS

En nuestro grupo de trabajo se sintetizó recientemente el compuesto **JPINAPP09**, a partir de la estructura de la combretastatina A4 (**CA-4**), el cual presentó actividad citotóxica contra células de cáncer cervicouterino (HeLa), de pulmón (SKLU-1) y leucemia (K562).⁶ Tomado estos compuestos como punto de partida, se propuso una nueva serie de aminas que simplifican la estructura del compuesto de referencia, pero conservan algunas de sus características estructurales, Figura 1. Los compuestos diseñados se sometieron a estudios de acoplamiento molecular empleando los programas *AutoDock Vina*, *AutoDock v4.2* y *GOLD* sobre la interfaz de la α/β tubulina con la finalidad de predecir su afinidad e interacciones sobre el sitio de unión de **CA-4**. Los compuestos se sintetizaron empleando una reacción de S_N2 con el correspondiente halogenuro de bencilo, Esquema 1. Para los compuestos **DMR0-2**, **DMR8**, **DMR10** y **DRM12**, se realizó la determinación de actividad citotóxica mediante el ensayo de sulforrodamina B empleando **CA-4** como referencia sobre la línea celular HeLa.

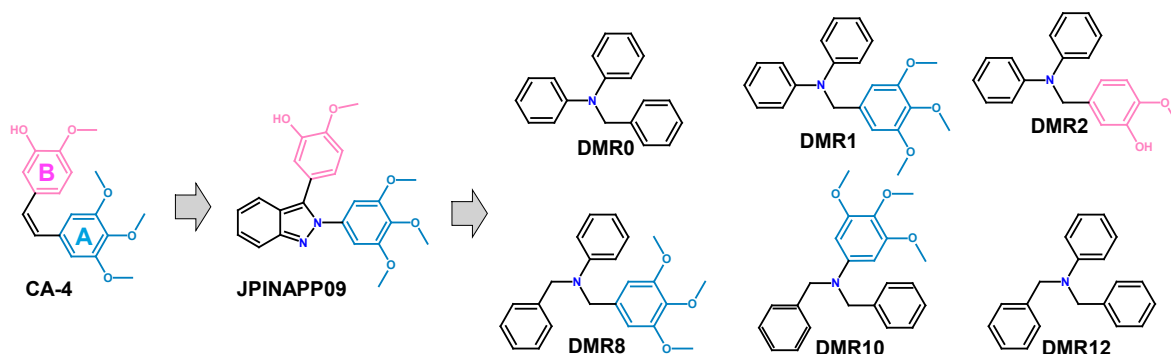
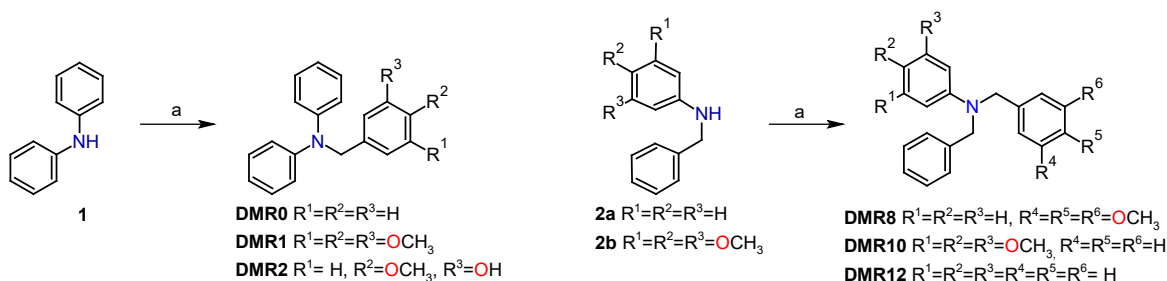


Figura 1. Estructura de aminas terciarias derivadas de CA-4 y JPINAPP09.



Esquema 1. Síntesis de los compuestos **DMR0–2**, **DMR8**, **DMR10** y **DMR12**. Reactivos y condiciones: a) NaH, DMF, bromuro o cloruro de bencilo apropiadamente sustituido, 25 °C, 60–90 min.

RESULTADOS

Los derivados propuestos se unieron en el sitio de interés con energías de unión similares o mejores que el compuesto de referencia **CA-4**, Tabla 1. Así mismo se hizo una comparación con las interacciones reportadas con la **CA-4**, para la cual se han identificado 17 interacciones de importancia, en su mayoría se observan interacciones de tipo hidrofóbicas e interacciones de Van der Waals (Tabla 1).

Tabla 1. Energías de unión y número de interacciones para los compuestos

Clave	Autodock Vina ΔG (kcal/mol)	Inter.*	Autodock 4.2 ΔG (kcal/mol)	Inter.	GOLD ChemPLP	Inter.
CA-4	-7.70 (RMSD = 0.949)	13	-8.02 (RMSD = 0.875)	12	70.45 (RMSD = 0.725)	13
DMR0	-8.50	6	-8.39	7	74.28	6
DMR1	-7.9	12	-8.70	10	72.32	11
DMR2	-8.8	11	-9.13	11	79.30	12
DMR8	-8.5	12	-9.25	12	79.57	12
DMR10	-8.2	13	-8.62	11	84.43	12
DMR12	-8.5	8	-8.42	8	77.52	9

*Interacciones reportadas de **CA-4**.

Las seis aminas terciarias se prepararon por síntesis convencional con rendimientos que van de muy buenos a regulares, todos los compuestos se lograron caracterizar mediante RMN de 1H y ^{13}C . Además, los compuestos se caracterizaron mediante espectrometría de masas.

Los ensayos de actividad citotóxica mostraron que **DMR10** y **DMR12** tienen actividad menor a 100 μM . En el análisis SAR se observó que es importante la presencia del grupo trimetoxifenil unido directamente al heteroátomo (N) como se observa en los compuestos **DMR10** y **DMR12**. Además, se observó que dos sustituyentes bencilo producen mejores resultados que uno solo. El análisis al microscopio de **DMR0**, **DMR1**, **DMR10** y **DMR12** mostró la presencia de células ligeramente redondeadas, diferentes a las células poligonales características de las células HeLa sin tratamiento, además se observa la disminución de la monocapa de células, esto a una concentración de 100 μM . Para los compuestos **DMR2** y **DMR8**, los cuales no indujeron cambios morfológicos, se observan células poligonales en forma de monocapa.

Tabla 2. Datos de CI_{50} ($\mu\text{M} \pm \text{DE}$) para los compuestos **DMR0–2**, **DMR8**, **DMR10** y **DMR12**

Compuesto	DMR0	DMR1	DMR2	DMR8	DMR10	DMR12	CA-4
HeLa	114 \pm 7.1	103 \pm 3.2	152 \pm 8.6	109 \pm 8.2	91 \pm 5.3	92 \pm 2.6	0.01 \pm 0.0013

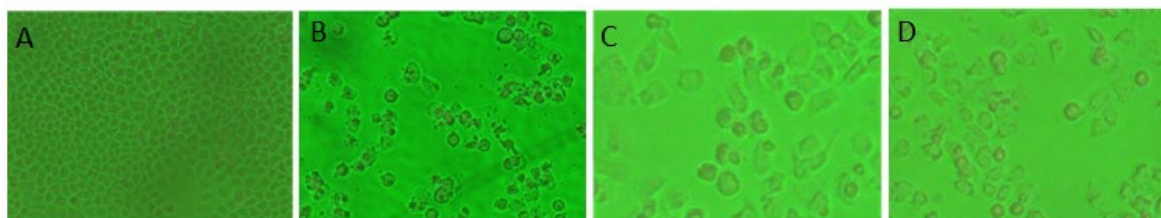


Figura 2. Microfotografías de células HeLa con y sin tratamiento: A) células sin tratamiento; B) células tratadas con **CA-4** a 0.05 μM ; C) células tratadas con **DMR10** a 100 μM ; D) células tratadas con **DMR12** a 100 μM .

CONCLUSIONES

Los compuestos sintetizados mostraron actividad citotóxica, particularmente **DMR10** y **DMR12** fueron los mejores, sin embargo, no se obtuvieron compuestos con una mayor potencia que la **CA-4**. Los compuestos **DMR0**, **DMR1**, **DMR10** y **DMR12** inducen cambios morfológicos en células HeLa, siendo los compuestos **DMR10** y **DMR12** los más interesantes para continuar con su estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. WHO. Mexico: WHO statistical profile. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (acceso Mar 27, 2022).
2. INEGI. Estadísticas del día mundial contra el cáncer 4 febrero 2021.
3. INEGI. Estadística de defunciones registradas de enero a junio 2021. <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2016/2016-cha-epidemiological-calendar.pdf> (accessed Mar 27, 2022).
4. Vanneman, M.; Dranoff, G. *Nat. Rev. Cancer* **2012**, *12* (4), 237–251.
5. Steinmetz, M. O.; Prota, A. E. *Trends Cell Biol.* **2018**, *28* (10), 776–792.
6. Pérez-Villanueva, J.; Matadamas-Martínez, F.; Yépez-Mulia, L.; Pérez-Koldenkova, V.; Leyte-Lugo, M.; Rodríguez-Villar, K.; Cortés-Benítez, F.; Macías-Jiménez, A. P.; González-Sánchez, I.; Romero-Velásquez, A.; Palacios-Espinosa, J. F.; Soria-Arteche, O. *Pharmaceuticals* **2021**, *14*, 815.

Ejes Temáticos

Tecnología Farmacéutica (TF)

Carteles

ESTUDIOS DE SOLUBILIDAD DE CARBAMAZEPINA EN EXCIPIENTES LIPÍDICOS DE INTERÉS FARMACÉUTICO

Erika Torres Aguilar[†], Mirna Yazmín Vera Bocanegra, Carlos Tomás Quirino Barreda*, Luis Alfonso Moreno Rocha*, Jorge Esteban Miranda Calderón*.*

[†]Maestría en Ciencias Farmacéuticas, Universidad Autónoma Metropolitana. Calz. del Hueso 1100, Coapa, Villa Quietud, Coyoacán, 04960 Ciudad de México, CDMX. erika.torres.aguilar@gmail.com

**Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana. Calz. del Hueso 1100, Coapa, Villa Quietud, Coyoacán, 04960 Ciudad de México, CDMX.*

Palabras clave: Solubilidad, Carbamazepina, Excipientes.

INTRODUCCIÓN:

En la actualidad se ha tenido un gran interés en el desarrollo y aplicación de estrategias que ayuden a incrementar la solubilidad de principios activos que poseen baja solubilidad acuosa (Rodríguez *et al.*, 2015). La solubilidad acuosa, disolución y permeación son características del fármaco que pueden limitar la eficacia terapéutica cuando son administrados oralmente. Se ha reportado que casi el 40% de los medicamentos que se comercializan y hasta un 75% de los compuestos en desarrollo son escasamente solubles en agua (Williams *et al.*, 2013). Cuando algún fármaco de interés posee propiedades lipófilas es candidato para ser incorporado a formulaciones donde se empleen vehículos lipídicos y dentro de estas formulaciones se incluyen el uso de aceites, tensoactivos y cotensoactivos que influirán a la solubilización del principio activo. Entre algunos ejemplos de este tipo de formulaciones, podemos mencionar: soluciones de lípidos, liposomas, emulsiones denominadas ‘convencionales’, microemulsiones y sistemas de administración de fármacos autoemulsionables (SEDDS, por sus siglas en inglés) (Chavda y Shah, 2017; Rodríguez *et al.*, 2015).

Por otra parte, la Carbamazepina (CBZ), es uno de los fármacos más empleados como anticonvulsivo, está indicado para el tratamiento profiláctico de distintos tipos de epilepsia. Sin embargo, este presenta importantes desventajas en su administración oral debido a su baja solubilidad en agua al pertenecer a la Clase II dentro de la clasificación biofarmacéutica (CBS) (García *et al.*, 2021).

OBJETIVO (S): Evaluar la solubilidad de CBZ en distintos excipientes lipídicos de interés farmacéutico como posibles candidatos a su utilización en formulaciones farmacéuticas que podrían aumentar la capacidad de carga dicho principio activo.

MATERIALES Y MÉTODOS: La metodología experimental para la realización de este estudio se dividió en 3 procesos, los cuales se esquematizan a continuación (Fig. 1):

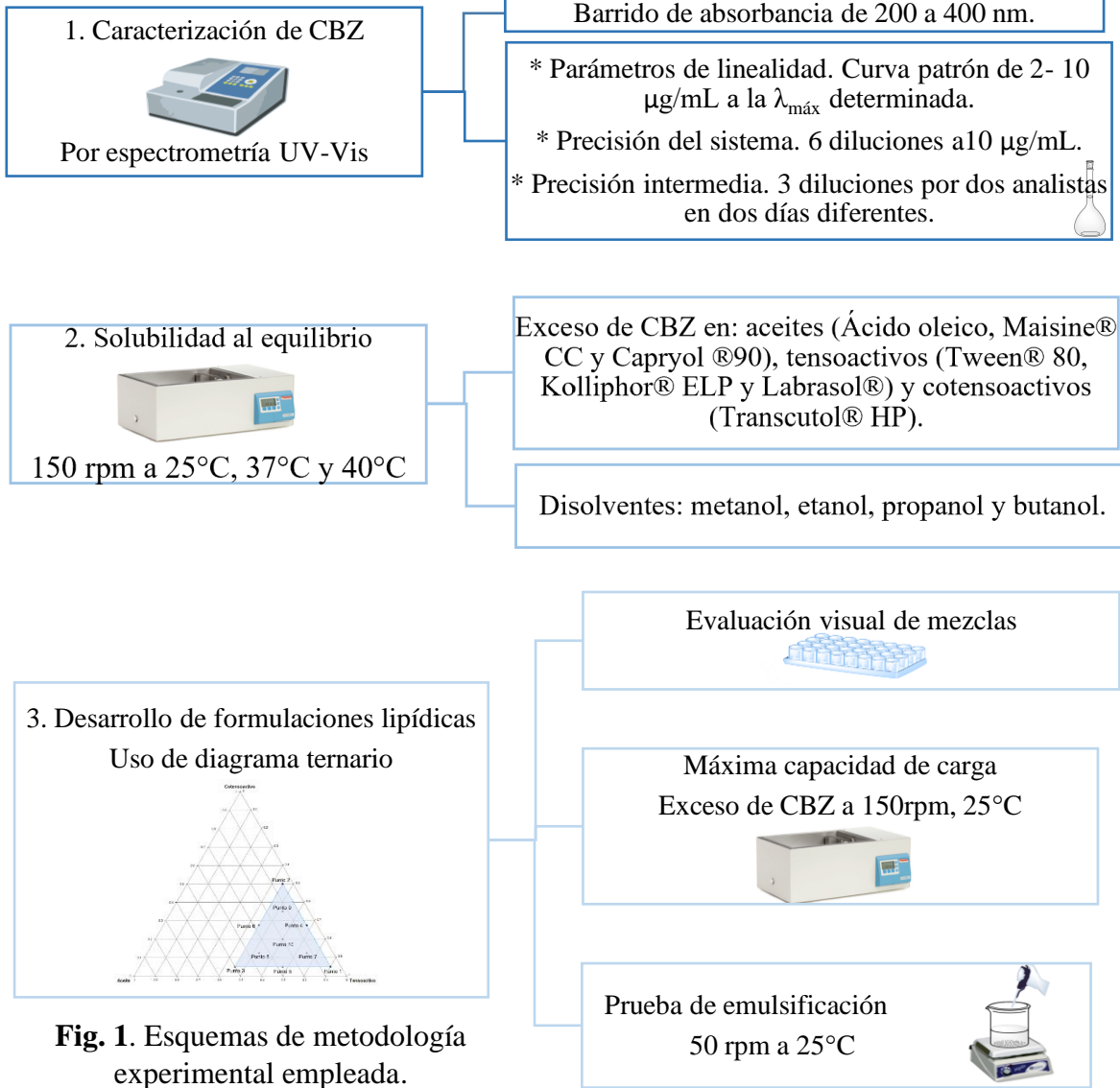


Fig. 1. Esquemas de metodología experimental empleada.

RESULTADOS:

Caracterización de Carbamazepina

Se determinó la longitud de onda máxima de absorbancia para dicho fármaco. El barrido de absorbancia elaborado de 200 a 400 nm mostró que la onda la longitud máxima ($\lambda_{\text{máx}}$) para CBZ es de 285 nm en una mezcla de agua: metanol en una proporción 60:40.

Cuantificación de principio activo por espectrofotometría UV-Vis

Se realizaron pruebas de linealidad, precisión del sistema y precisión intermedia como parte de la validación del método analítico para cuantificar por espectrofotometría UV-Vis CBZ. La validación de los métodos analíticos respalda la calidad de productos formulados, ya que

la calidad de los datos analíticos es un factor clave del éxito de una formulación (Chandran y Singh, 2007). De esta manera, con base a los resultados obtenidos y los criterios de aceptación establecidos para cada uno de los parámetros evaluados, los datos son lineales ($r^2 > 0.98$), precisos ($CV < 3.0\%$) y reproducibles ($CV < 3.0\%$).

Desarrollo de formulación lipídica

Solubilidad al equilibrio

Se determinó la capacidad de solvatación de CBZ en Ácido oleico, Capryol® 90, Maisine® CC (como aceites) Labrasol®, Tween 80, Kolliphor® ELP (tensoactivos) y Transcutol® HP (cotensoactivo) a 25°C, 37°C y 40°C (Figura 2) con el fin de determinar el incremento de la solubilidad del fármaco y consiguiente probabilidad de ser utilizadas en formulaciones lipídicas.

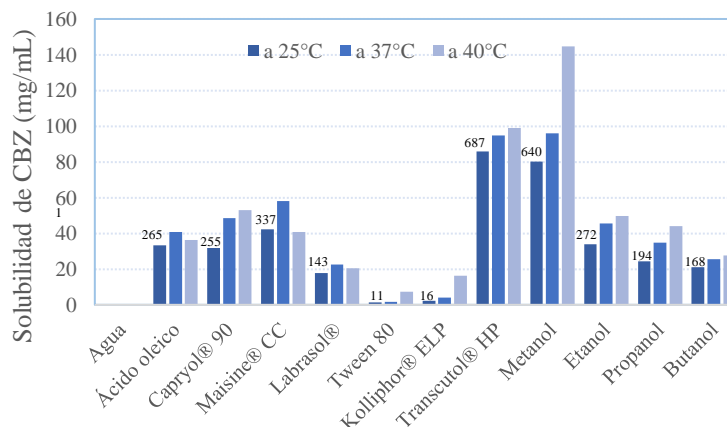


Fig. 2. Solubilidad al equilibrio de CBZ de excipientes lipídicos a 25°C, 37°C y 40°C. Etiquetas superiores a 25°C número de veces de aumento de respecto al agua.

De los tres excipientes lipídicos propuestos, Maisine® CC fue el excipiente en el que la CBZ es más soluble con un aumento de solubilidad de más de 330 veces respecto a agua, seguido de Ácido oleico con un aumento de más de 260 veces y Capryol® 90 con un aumento de más de 250 veces a temperatura ambiente (Fig. 2). Maisine® CC está compuesto por mono-, di- y triglicéridos de cadena larga tanto de ácido linoleico y ácido oleico, y son posiblemente la presencia de los mono- y diglicéridos los que le den su mayor capacidad de solvatación de CBZ frente triglicéridos vegetales, como lo es el aceite de soya (Gattefossé, 2022) o incluso, monoglicéridos de cadena media, como, por ejemplo; Carpyol® 90. Adicionalmente, es importante mencionar que en la literatura actual muestra a Maisine® como un vehículo oleoso muy usado en formulaciones basadas en lípidos (Liu *et al.*, 2008, Gattefossé, 2022) por ser excelente solubilizador de fármacos de clase II dentro de la CBS, con un log P de entre 2 y 8, como lo es CBZ (Gattefossé, 2022). Por su parte, aunque el ácido oleico ha sido empleado como excipiente lipídico en nuevos sistemas de administración de fármacos que contienen CBZ, (Kumar *et al.*, 2017), los resultados obtenidos muestran que la solubilidad de CBZ en ácido oleico en comparación a Maisine® CC es menor, por ello este último resulta ser buena opción por emplear en formulaciones lipídicas con CBZ.

Con respecto a los tensoactivos evaluados, Labrasol® es el que presenta una solubilidad más elevada de más de 140 a veces respecto a agua de CBZ, seguido de Kolliphor® ELP y Tween

80. La mayor solubilización de CBZ en Labrasol®, frente a los otros, es reportado igualmente por Patel y colaboradores en 2013, y esto se explica por las diferencias en los valores de viscosidad que poseen; la menor viscosidad por Labrasol® (80-110 mPas a 20°C) podría facilitar la dispersión y por consiguiente la solvatación de CBZ en comparación con la superior viscosidad de Tween 80 (424 mPas a 25°C) y Kolliphor® ELP (600-700 mPas a 25°C). De esta manera, se espera que Labrasol® con un alto valor de HLB funja como tensoactivo hidrofílico principal en distintas formulaciones facilitando la dispersión y ayude a mejorar la solubilidad del fármaco (Kumar *et al*, 2017).

Adicionalmente, aunque tanto Capryol® 90 y Transcutol® HP son empleados como cotensoactivos en formulaciones orales, Transcutol® HP es el cotensoactivo con los valores más altos de solubilización de CBZ, con un aumento de solubilidad de más de 650 veces respecto al agua (Fig. 2). La anterior se debe a la alta afinidad y miscibilidad con grupos hidrófobos de Transcutol®, gracias a la presencia de grupos funcionales (éter e hidroxilo) capaces de donar y aceptar protones (Osborne y Musakhanian, 2018). Así mismo, se puede atribuir a la capacidad de disolver moléculas de un soluto a través de la polarización de estas, es decir, por los valores de constante dieléctrica. Los solventes polares como Transcutol® HP (constante dieléctrica de 14.1) tiene la capacidad de solvatar moléculas a través de las fuerzas de interacción dipolar, en particular con la formación de enlaces de H con CBZ, siendo de manera contraria los compuestos no polares, como lo es Capryol® 90, con constante dieléctrica de 6.1 (Nardin & Köllner, 2019). Es importante mencionar, que este comportamiento se observa a las tres temperaturas evaluadas.

Finalmente, como parte de la caracterización de la polaridad de CBZ, se determinó su solubilidad en metanol, etanol, propanol y butanol. Como se puede observar en la Fig. 2, conforme va aumentando el número de carbonos de los alcoholes, la solubilidad de CBZ disminuye a las tres temperaturas, es decir, que solubilidad no están en función del aumento de la longitud de los carbonos en los alcoholes evaluados, y esto se puede correlacionar con: las fuerzas de dispersión entre los distintos disolventes y el principio activo, la polaridad de solventes y las interacciones por puentes de H entre el alcohol y dicho fármaco (Malwade *et al*, 2013). Lo anterior podría ser indicativo que la CBZ no tiene comportamiento liposoluble y es por ello que se podría pensar en estudios posteriores la incorporación de dicho fármaco en otras estrategias que ayuden a mejorar la baja solubilidad de principio activos pocos solubles.

Realización de formulación lipídica

De acuerdo con la observado por las pruebas de solubilidad al equilibrio, se propuso la realización de formulaciones lipídicas con la incorporación de los excipientes donde CBZ mostró la máxima solubilidad, es decir, con Maisine® CC como excipiente lipídico, Labrasol® como tensoactivo y Transcutol® HP como cotensoactivo.

Las proporciones de las formulaciones propuestas se encuentran en función de las proporciones de A/T/C reportadas en la literatura dentro de la zona de emulsión favorable (Zewail *et al.*, 2021, Fitria *et al.*, 2021) y con ayuda de un diseño de experimentos simplex reticular aumentado (Pulido *et al.*, 2012) se determinaron los 10 puntos a evaluar (Fig. 3).

Caracterización de formulaciones propuestas

Apariencia física

Previa a su carga con principio activo, las diez mezclas propuestas se evaluaron en apariencia física. No mostrando separación de fases u opacidad, siendo todas homogéneas y con ligero color amarillo.

Máxima capacidad de carga

La cantidad cargada de CBZ en las mezclas de A/T/C con las diez diferentes proporciones se muestran en la Tabla 1. Fue la mezcla perteneciente al punto 2 la que obtuvo la máxima capacidad de carga con 190.267±3.392 mg/mL de CBZ, sobrepasando la cantidad de fármaco disuelto Maisine® CC, Labrasol® y Transcutol® HP individualmente.

De acuerdo con los resultados obtenidos (Fig. 4) son las proporciones de aceite bajas, de tensoactivo de bajas a intermedias y de cotensoactivo de intermedias a altas las que lograron la mayor capacidad de carga del fármaco. Son principalmente las concentraciones de cotensoactivo, seguido de las de aceite las que tiene la mayor influencia en la capacidad de carga, pues tanto la disminución de proporciones de cotensoactivo y el aumento de la concentración de aceite disminuyen la capacidad de carga de CBZ. Es decir, que la capacidad de carga se ve favorecida en mayor medida gracias a la presencia de la mayor proporción posible de Transcutol® HP, excipiente que como ya se mencionó, logró aumentar más la solubilidad de CBZ respecto a los demás.

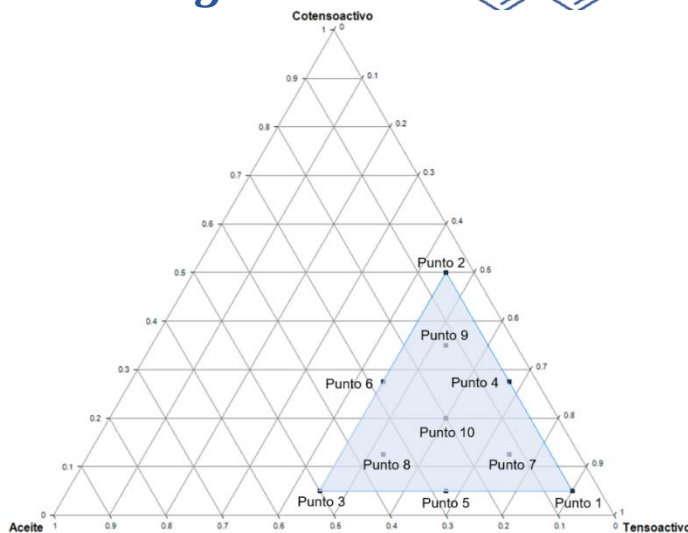


Fig. 3. Diagrama ternario en azul zona de emulsión favorable con puntos evaluados.

Tabla 1. Máxima capacidad de carga de CBZ

Punto	Cantidad de CBZ (mg/mL)	Punto	Cantidad de CBZ (mg/mL)
1	133.906±11.025	6	126.781±3.973
2	190.267±3.392	7	161.768±2.865
3	138.740±8.628	8	133.779±9.024
4	163.014±11.667	9	100.827±2.699
5	99.046±4.991	10	158.842±8.443

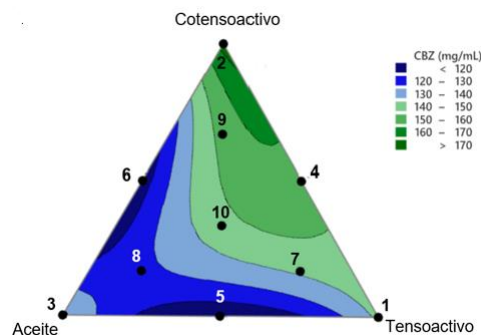


Fig. 4. Gráfica de superficies en la zona de emulsión favorable con diez puntos evaluados.

Adicionalmente a esta prueba se realizó la formación de las emulsiones correspondientes, evaluando la posibilidad de ser candidatos a la formación de sistemas de administración de fármacos autoemulsionables (SEDDS).

Prueba de emulsificación

Con las mezclas previamente cargadas de principio activo, se procedió a la formación de la emulsión, en una proporción 1:250 con agua a temperatura corporal. Como se puede observar en el diagrama ternario correspondiente (Fig. 5) solamente 3 de las 10 proporciones evaluadas fueron capaces de formar una la emulsión, mostrando que las restantes presentaron fenómenos de separación de fases o coalescencia. Sin embargo, se puede resaltar que dentro de estos puntos se incluyen algunos de los cuales mostraron la mayor capacidad de carga de CBZ e incluso el punto con la mayor carga del fármaco de interés de todos los evaluados, es decir el punto 2.

Como perspectiva a futuro, se propone que se elaboren más estudios con la posibilidad del desarrollo de formulaciones emulsionables (SEDDS) pero con la utilización de una mezcla de tensoactivos (de los propuestos en este estudio), pues, con base a reportes actuales, se considera una mezcla adecuada de tensoactivos favorecen la formación de emulsiones estables a través de la absorción favorable de estos en la interfaz, disminuyendo de mejor manera la energía interfacial lo suficiente para formar una emulsificación de manera espontánea (Cueto *et al*, 2019; Inugala *et al*, 2015).

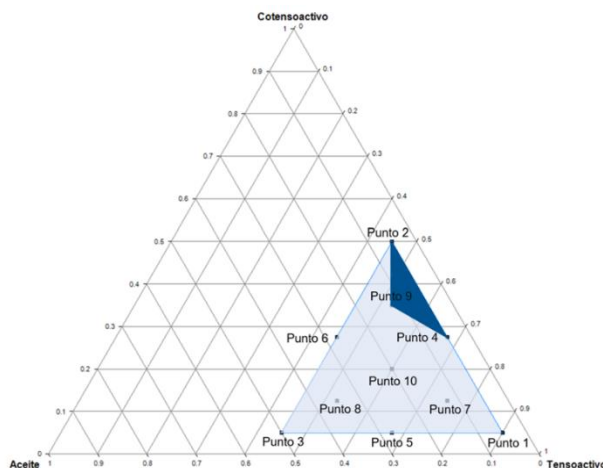


Fig. 5. Diagrama ternario con zona de emulsificación observada (sombreado) para las proporciones evaluadas.

CONCLUSIONES:

Se logró evaluar la solubilidad de CBZ en distintos excipientes lipídicos de interés farmacéutico, observando que Maisine® CC como vehículo oleoso, Labrasol® como tensoactivo y Transcutol®HP como cotensoactivo son los que presentaron la mayor solubilidad de CBZ y son candidatos a su utilización en formulaciones farmacéuticas, pues, con la realización de las formulaciones lipídicas se logró aumentar la cantidad de principio activo disuelto respecto a los ya mencionados excipientes individualmente. Mostrando que las altas concentraciones del excipiente que mostró la mayor solubilidad de CBZ, es decir, Transcutol®HP, es el que tiene la mayor influencia en la máxima capacidad de carga. Finalmente, con la realización de la prueba de emulsificación se propone que a futuro se elaboren más estudios en la realización de SEDDS con empleo de la una mezcla de tensoactivos esperando que el empleo de ambos favorezca en la mayor capacidad de carga y estabilidad de las emulsiones resultantes.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Chandran, S., & Singh, R. S. P. Comparison of various international guidelines for analytical method validation. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2007**, 62(1), 4-14.
2. Chavda, V. P., & Shah, D. Self-emulsifying delivery systems: one step ahead in improving solubility of poorly soluble drugs. In *Nanostructures for cancer therapy*. **2017**.(pp. 653-718). Elsevier.
3. Cueto, Y. L., Ortega, W. L., & Sotomayor, R. G. Sistemas de entrega de fármacos autoemulsificables: una plataforma de desarrollo alternativa para la industria farmacéutica colombiana. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*. **2019**, 48(2), 260-313.
4. Fitria, A., Hanifah, S., Chabib, L., Uno, A. M., Munawwarah, H., Atsil, N., ... & Syukri, Y. Design and characterization of propolis extract loaded self-nano emulsifying drug delivery system as immunostimulant. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **2021**, 29(6), 625-634.
5. Garc'ya, M. A., Cristofolletti, R., Abrahamsson, B., Groot, D. W., Parr, A., Polli, J. E., ... & Langguth, P. Biowaiver monograph for immediate-release solid oral dosage forms: carbamazepine. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2021**, 110(5), 1935-1947.
6. Gattefosse. Maisine® CC. A pharmaceutical oil for solubility and oral bioavailability enhancement. [Online] **2022**, https://www.gattefosse.com/back/files/Maisine%20CC_gattefosse%20pharmaceutical%20oil%20for%20solubility%20and%20bioavailability%20enhancement.pdf. (27 abril de 2022).
7. Gursoy, RN y Benita, S. Sistemas de administración de fármacos autoemulsionantes (SEDDS) para mejorar la administración oral de fármacos lipofílicos. *Biomedicina y farmacoterapia*, **2004**, 58 (3), 173-182.
8. Inugala, S., Eedara, B. B., Sunkavalli, S., Dhurke, R., Kandadi, P., Jukanti, R., & Bandari, S. Solid self-nanoemulsifying drug delivery system (S-SNEDDS) of darunavir for improved dissolution and oral bioavailability: in vitro and in vivo evaluation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2015**, 74, 1-10.
9. Joyce, P., Dening, T. J., Meola, T. R., Schultz, H. B., Holm, R., Thomas, N., & Prestidge, C. A. Solidification to improve the biopharmaceutical performance of SEDDS: Opportunities and challenges. **2019**. *Advanced drug delivery reviews*, 142, 102-117.
10. Kumar, G. P., Rambhau, D., & Apte, S. S. Development of NDDS of carbamazepine in epilepsy for medical discovery of formulation significance. *Journal of Medical Discovery*, **2017**, 2(2), 1-13.
11. Liu, W., Dang, L., Black, S., & Wei, H. Solubility of carbamazepine (Form III) in different solvents from (275 to 343) K. *Journal of Chemical & Engineering Data*, **2008**, 53(9), 2204-2206.
12. Malwade, C. R., Qu, H., Rong, B. G., & Christensen, L. P. Evaporative crystallization of carbamazepine from different organic solvents. In *20th International Workshop on Industrial Crystallization*. **2013**, pp. 364-371. Syddansk Universitetsforlag.
13. Nardin, I., & Köllner, S. Successful development of oral SEDDS: Screening of excipients from the industrial point of view. *Advanced drug delivery reviews*, **2019**, 142, 128-140.

14. Neslihan Gursoy, R., & Benita, S. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **2004**, 58(3), 173–182.
15. Osborne, D. W., & Musakhanian, J. Skin penetration and permeation properties of Transcutol®—neat or diluted mixtures. *Aaps Pharmscitech*, **2018**, 19(8), 3512-3533.
16. Patel, R. B., Patel, M. R., & Patel, B. G. Formulation consideration and characterization of microemulsion drug delivery system for transnasal administration of carbamazepine. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, **2013**, 51(2), 243-253.
17. Pulido, H. G., De la Vara Salazar, R., González, P. G., Martínez, C. T., & Pérez, M. D. C. T. *Análisis y diseño de experimentos*. New York, NY, USA.: McGraw-Hill. **2012**.
18. Rodriguez-Aller, M., Guillarme & Gurny, R. Strategies for formulating and delivering poorly water-soluble drugs. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **2015**, 30, 342-351.
19. Vasconcelos, T., Sarmiento, B., & Costa, P. Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs. *Drug discovery today*, **2007**, 12(23-24), 1068-1075.
20. Williams, H. D., Trevaskis, N. L., Charman, S. A., Shanker, R. M., Charman, W. N., Pouton, C. W., & Porter, C. J. Strategies to address low drug solubility in discovery and development. *Pharmacological reviews*, **2013**, 65(1), 315-499.
21. Zewail, M. B., El-Gizawy, S. A., Osman, M. A., & Haggag, Y. A. Preparation and In vitro characterization of a novel self-nano emulsifying drug delivery system for a fixed-dose combination of candesartan cilexetil and hydrochlorothiazide. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **2021** New York, NY, USA, 61, 102320.

SISTEMAS DE LIBERACIÓN PROLONGADA DE DESVENLAFAXINA SUCCINATO A PARTIR DE DISPERSIONES SÓLIDAS

Ángel Guadalupe Tzanahua López¹, Jorge Esteban Miranda Calderón¹, María Josefa Bernard Bernard²,
Lizbeth Martínez Acevedo¹, Carlos Tomas Quirino Barreda¹

¹Unidad Interdisciplinaria de Desarrollo Investigación y Servicio, Universidad Autónoma Metropolitana,
Prolación Canal de Miramontes N. 3855, Coapa, Ex de San Juan de Dios, Tlalpan, C.P. 14387, Ciudad de
México, México

²Facultad de Química, Universidad Autónoma Nacional de México, Cto. Escola S/N, C.U., Coyoacán,
04510, Ciudad de México, México
2202802080@alumnos.xoc.uam.mx

Palabras clave: *Dispersión sólida, liberación prolongada, Kolliphor® P 188, Soluplus®, Methocel™*

INTRODUCCIÓN: Las dispersiones sólidas son un grupo de sistemas formados por algún fármaco y una matriz que sirve como vehículo inerte constituido de excipientes, ambos se dispersan molecularmente, de tal forma que se altera la cristalinidad del principio activo ocasionando que se modifique su solubilidad y velocidad de disolución, mejorando su mejor humectabilidad y dispersabilidad. (Allawadi, et al., 2013; Dhirendra et al., 2009; Florence y Attwood 2015; Huang y Dai, 2014). La clasificación de los sistemas dispersos sólidos se divide por su arreglo molecular (disposición tridimensional de los átomos que tendrán las moléculas de cada componente que contiene la dispersión sólida) y generaciones (se basan en el número y los diferentes portadores y excipientes que utilizan) (Dhirendra et al., 2009; Shah et al., 2014). Los sistemas dispersos de cuarta generación conocidos como dispersiones sólidas de liberación modificada; se han utilizado para mejorar y controlar la liberación para aquellos fármacos pocos solubles en agua con una vida media corta y/o requieran una liberación modificada mediante la aplicación de portadores insolubles o hinchables que evitan el proceso de recristalización y la sobresaturación que provocan la precipitación del fármaco dando como resultado una baja biodisponibilidad. Las ventajas que ofrece la cuarta generación son la estabilidad fisicoquímica y los tratamientos farmacológicos (Bindhani y Mohapatra, 2018; Tekade y Yadav, 2020).

OBJETIVO: Diseñar e identificar dispersiones sólidas de desvenlafaxina succinato basadas en polímeros hidrofílicos (Soluplus® y Kolliphor® P 188) y celulósicos (Methocel™ K15M y K100M) para lograr una liberación prolongada.

MATERIALES Y MÉTODOS: La desvenlafaxina succinato fue proporcionada HELM de México, S.A. Kollidon® 30 (PVP K30), Kolliphor® P 188 (Poloxámero P 188), y Soluplus® adquiridos por Basf de México S.A. de C.V. Methocel™ K15M y K100M (HPMC) proviene de Colorcon de México, S. de R.L. de C.V. Labrafil® M2130 CS lo fabrica Gattefossé. El etanol adquirido de ALVEG Distribución Química, S.A. de C.V.

I. Fabricación de dispersiones sólidas

Método de fusión: Se fundió el Kolliphor® P188 a una temperatura de 50°C – 56°C, posterior se agregó desvenlafaxina succinato para que se mezclada con el portador y se fundieron

aplicando ciclos de calentamiento y mezclado hasta formar una mezcla homogénea; después se incorporó Methocel™ K15 y/o K100, Kollidon® 30 y Labrafil® M2130 CS aplicando ciclos de calentamiento y mezclado hasta obtener la dispersión sólida. La masa obtenida se secó durante 48 h a temperatura ambiente, trituró con un mortero y tamizó por malla No. 25.

Método por evaporación de solventes: Se adicionó Soluplus® y etanol (3 mL a 6 mL) hasta cubrir el excipiente por completo y se mezcló a una temperatura de calentamiento de 60°C – 70°C. Posterior, desvenlafaxina succinato se agregó y se fundieron aplicando ciclos de calentamiento y mezclado hasta formar una mezcla homogénea; se incorporó Methocel™ K15M y/o K100M, Labrafil® M 2130 CS) y Kollidon® 30 aplicando ciclos de calentamiento y mezclado hasta formar la dispersión sólida. La masa obtenida se enfrió a temperatura ambiente, estiró y aplanó. La dispersión sólida se dejó secar por 48 h a temperatura ambiente, trituró con un mortero y tamizó por malla No. 25.

II. Caracterización fisicoquímica de dispersiones sólidas

Espectroscopia infrarroja: La cantidad de muestra para analizar fue 10 mg, usando un espectrofotómetro infrarrojo con transformadas de Fourier modelo spectrum two, marca Perkin-Elmer, en el rango entre 4000 y 550 cm⁻¹.

Calorimetría diferencial de barrido: Cada una de las muestras analizadas, se pesaron en crisoles de aluminio entre un peso de 1 mg a 10mg. Posterior, se taparon con una prensa y perforó su tapa. Para el análisis se utilizó el calorímetro, marca Netzsch, modelo 214 Polyma aplicando una temperatura de 20°C a 250°C con una velocidad de calentamiento de 10°C/min.

Valoración: Se preparó una solución madre acuosa a partir de una dosis equivalente a 100 mg del fármaco, posterior una alícuota de 2 mL se filtró a través de una membrana de nylon de 0.45 µm y se diluyó en 10 mL. Finalmente, la solución diluida fue cuantificada en un espectrofotómetro UV-Visible, marca Shimadzu, modelo UV-120.

Ángulo de reposo y velocidad de flujo: El borde inferior del embudo se colocó a una distancia de 12.5 cm con respecto a la superficie de prueba. Para comenzar la prueba, el polvo de la muestra se introdujo en el embudo, enseguida se contó el tiempo hasta que el sólido saliera por completo. A partir de los datos del tiempo que tardó en caer todo el polvo y la cantidad de polvo, se calculó la velocidad de flujo. En tanto, el lecho formado por el polvo se midió su diámetro y altura, dicha información se utilizó para calcular el ángulo de reposo.

RESULTADOS: Los rendimientos de las dispersiones sólidas por el método de fusión se observaron que fueron mayores (alrededor del 98 %) a comparación del método de evaporación de solventes (entre 95% - 96%) debido a que el Soluplus® presenta una mayor viscosidad y adhesión al combinarse con el fármaco y los demás componentes de la matriz, lo que dificultó su proceso de mezclado; por lo tanto, el tiempo de homogeneización es mayor a comparación con el método de fusión empleando el Kolliphor® P188 (ver tabla 1).

El contenido de desvenlafaxina succinato resultante en las formulaciones de los sistemas dispersos sólidos se encuentran entre 102% - 103%. De acuerdo con la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 13ª edición (FEUM), indica que la especificación de la prueba es

90% - 110%, cumpliendo así con el intervalo. El ángulo de reposo de las formulaciones de dispersiones sólidas se encontró por debajo de 21° , la FEUM 13^a edición especifica que este debe ser menor a 30° . Las velocidades de flujo de cada dispersión sólida que contiene Soluplus® son mayores de 1 g/s, comparadas con las formulaciones compuestas por Kolliphor® P188 en las cuales la velocidad de flujo es menor a 1 g/s (ver tabla 1).

Tabla 1. Resultados de propiedades fisicoquímicas y rendimiento de las formulaciones.

Formulación	Proporción (DS: P: M)*	Rendimiento (%)	Valoración (%)	Ángulo de reposo ($^\circ$)	Velocidad de flujo (g/s)
F1K (Methocel™ K100M)	1:1:0.5	98.60	102.89	12.13	0.75
F2K (Methocel™ K100M-K15M)	1:1:0.9	98.14	102.79	20.16	0.50
F1S (Methocel™ K15M)	1:1:0.75	96.71	103.33	12.01	1.39
F2S (Methocel™ K100M)	1:1:0.5	95.70	103.11	11.59	1.84

*DS=Desvenlafaxina succinato, Portador (K= Kolliphor® P 188 y S=Soluplus®)y Methocel™

Los arreglos moleculares identificado de los sistemas dispersos producidos por el método de fusión fue una mezcla monotética (muestran dos eventos endotérmicos) en la formulación F1K y una mezcla eutéctica para el caso de la formulación F2K (presentan un evento endotérmico). Desvenlafaxina succinato presenta un pico endotérmico aproximadamente a los 130°C y Kolliphor® P188 un punto de fusión de 58.0°C . El estado cristalino del fármaco de las mezclas eutécticas se reduce y forma una sola fase con el portador, manifestándose un solo punto de fusión, a comparación las mezclas monotéticas poseen dos fases (fármaco-matriz portadora) con dos puntos de fusión (ver figura 1).

Los sistemas dispersos sólidos encontrados por el método de evaporación de solventes fueron soluciones vítreas (formulación F1S) y soluciones sólidas cristalinas (formulación F2S). Las dispersiones sólidas cristalinas solo muestran un evento endotérmico del fármaco debido al cambio cristalino mostrando (117°C). Mientras que las dispersiones sólidas amorfas no se identifican ninguna señal debido a las distintas formas irregulares que sufren los cristales del fármaco que presentan diferentes puntos de fusión (ver figura 1).

Los espectros de infrarrojo de las dispersiones sólidas de desvenlafaxina succinato con Kolliphor® P188 y desvenlafaxina succinato con Soluplus se compararon con el espectro del fármaco puro y la mezcla física. Las señales principales que presenta desvenlafaxina succinato pura aparecen aproximadamente a los 3400 cm^{-1} indicativo de un grupo hidroxilo; bandas de $3000 - 2800\text{ cm}^{-1}$ de la tensión de los enlaces de hidrógeno de los carbonos sp^2 y sp^3 (C-H); $1200 - 1000\text{ cm}^{-1}$ es la flexión del enlace C-O. No se encuentran señales significativas y diferentes entre los espectros de infrarrojo de las mezclas físicas, dispersiones sólidas y el fármaco, por lo tanto, no hay formación de complejos o enlaces intermoleculares. Sin embargo, algunos picos se pronunciaron o redujeron principalmente de los grupos

funcionales que contienen oxígeno, nitrógeno y de los enlaces carbono-hidrógeno sp^2 y sp^3 ; significa que existencia de interacciones de puentes de hidrógeno (ver figura 1).

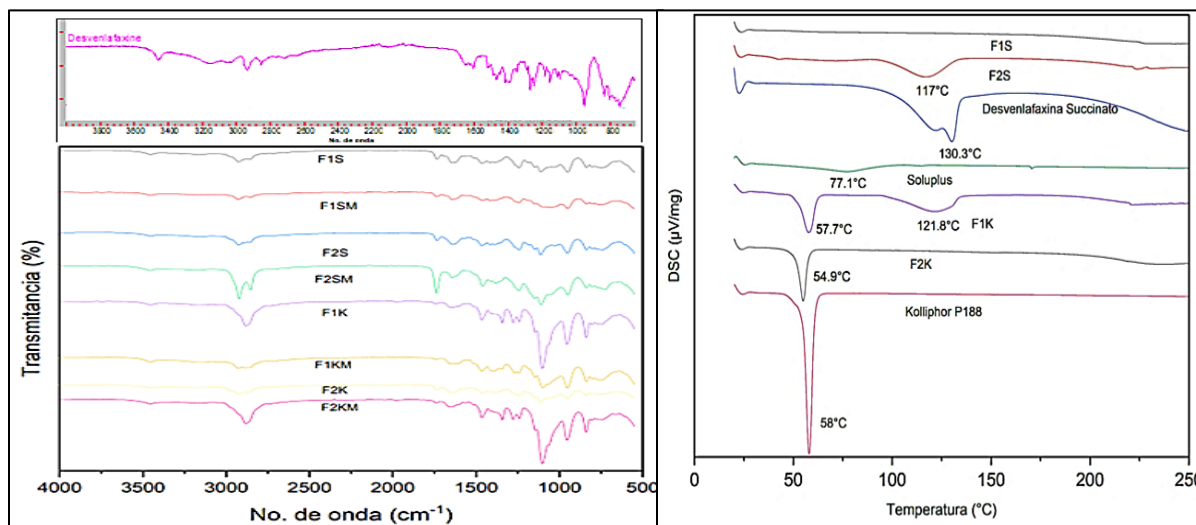


Figura 1. Espectro infrarrojos y termogramas de DSC de dispersiones sólidas y mezclas físicas de desvenlafaxina succinato.

CONCLUSIONES: Las dispersiones sólidas identificadas en el método de fusión fueron mezclas eutécticas y mezclas monotécticas mientras que las del método de evaporación de solventes son soluciones sólidas amorfas y soluciones sólidas cristalinas. Por lo tanto, los dos procesos de fabricación aplicados es posible obtener dispersiones sólidas de cuarta generación debido a la adición de un agente liberación prolongado como Methocel™ K15M o K100M. La disminución de la cristalinidad o la amorfización del fármaco se debe a la cantidad y al tipo de Methocel™ K15M o K100M originando un sistema térmicamente más activo y probablemente con una mayor solubilidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Allawadi, D.; Singh, N.; Singh, S.; Arora, S. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. **2013**, 4, 9, 2094-2105.
2. Bindhani S.; Mohapatra, S. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, **2018**, 11, 2, 72–8.
3. Dhirendra, K.; Lewis, S.; Udupa, N. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2009**, 22, 2, 234 – 246
4. Florence, A. T.; Attwood, D. *Pharmaceutical Press*, **2015**, 7-68
5. Huang, Y.; Dai, W. G. *Acta pharmaceutica Sinica B*, **2014**, 4, 1, 18–25.
6. Shah, N.; Sandhu, H.; Choi, D.S.; Chokshi, H.; Malick, A.W. *Springer Science+Business Media*, **2014**, 35 – 90.
7. Tekade, A. R.; Yadav, J. N. *Advanced pharmaceutical bulletin*, **2020**, 10, 3, 359–369.

ELABORACIÓN DE PARCHES TRANSDÉRMICOS CON ALUMBRE, ALOE VERA Y MANZANILLA PARA EL TRATAMIENTO DE QUEMADURAS DE PRIMER GRADO Y HERIDAS LEVES

Josué Jacob Olivares Saucedo[†] (Autor 1, expositor), Paola Ediadora Hidalgo López[†] (Autor 2), Armando Ismael Velázquez Cortés (Autor 3)[†], M. en C. José Sánchez Enríquez[†] (Autor 4).

[†]Adscripción de cada autor: Universidad Mexiquense del Bicentenario Unidad Tultitlán.

*Autor de correspondencia:

Correo: profe_sanchezuest@hotmail.com, ediadora1975@gmail.com

Palabras clave: Bioplástico, Parches transdérmicos, lignina, heridas leves, quemaduras de primer grado.

INTRODUCCIÓN:

Se elaboraron dos tipos de parches transdérmicos uno a base de pectina y otro a base de lignina los cuales contienen los agentes terapéuticos Aloe vera, Alumbre y Manzanilla para comprobar cuál de los dos parches reduce el tiempo de cicatrización y alivio de heridas leves practicadas en 30 ratones de laboratorio (*Mus musculus*). Se hicieron tres grupos de 10 ratones cada grupo. Primer grupo se realizó una herida de 0.5 cm aproximadamente en el lomo y se les aplicó el parche transdérmico a base de lignina, con el segundo grupo se procedió igual pero se aplicó parche transdérmico a base de pectina y al tercer grupo no se le aplicó parche alguno. Se observa el grupo de ratones al que se aplicó los parches transdérmicos a base de lignina, presentan un menor tiempo de cicatrización y alivio que los parches a base pectina.

OBJETIVO (S):

OBJETIVO GENERAL

Elaborar parches transdérmicos de película plástica con lignina obtenida de hojas de elote la cual tendrá alumbre, aloe vera y manzanilla como sustancias activas para el tratamiento de cortaduras leves y quemaduras de primer grado, evitando que se infecten.

A) METODOLOGÍA PARA OBTENCION DE BIOPELÍCULA A PARTIR DE PECTINA

Las variables a considerar son las cantidades de pectina y alcohol polivinilo, dejado constantes las cantidades de glicerina y ácido benzoico. La siguiente tabla muestra la variación que se realizará de las sustancias referidas.

INGREDIENTE	FORMULACIÓN 1	FORMULACIÓN 2	FORMULACIÓN 3	FORMULACIÓN 4
Pectina	5 g	5 g	5 g	11 g
Alcohol polivinílico	5 g	8 g	11 g	5 g
Glicerina	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml
Acido benzoico	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml
Agua destilada	50 ml	50 ml	50 ml	50 ml

B) METODOLOGÍA PARA ELABORAR BIOPLASTICO A PARTIR DE LIGNINA.

Se elaboran bioplásticos a base de lignina para compararlo con el bioplástico de pectina.

RESULTADOS:

BIOPELÍCULA A BASE PECTINA

En la figura 1 se muestra los pasos seguidos para la elaboración de biopelícula de pectina y en la figura 2 se presentan los resultados de las 5 formulaciones realizadas de acuerdo a las tablas 1 y 1-A, (Ver figuras 1 y 2, así como tablas referidas).

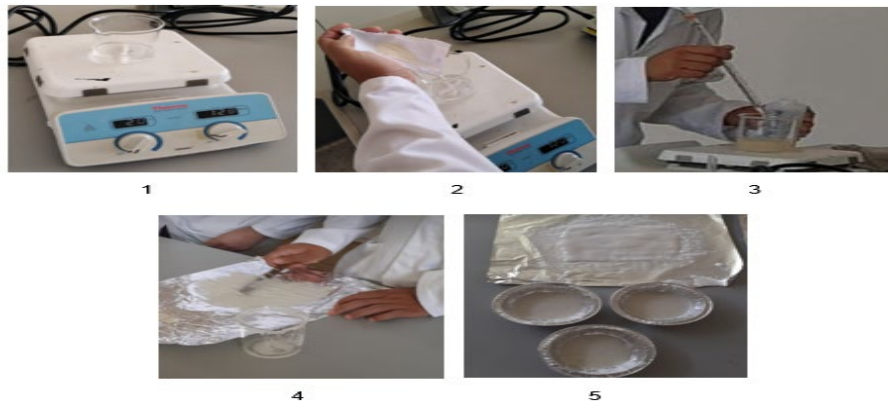


Fig. 1. Fotografías que muestran los 5 pasos de la metodología para elaborar biopelícula de pectina. Fuente propia



Fig.2 Biopelículas de pectina, se aprecia el aspecto de cada una de las 5 formulaciones elaboradas. Fuente propia.

De las cinco formulaciones elaboradas, la número 5 (ver tabla 1-A) fue la que presentó mejor apariencia como se puede apreciar en la figura 2 y por tal razón se eligió esta para elaborar los parches transdérmicos a la cual se le añadió alúmina, aloe vera y manzanilla. La figura 4 muestra el proceso del vaciado de la formulación 5 con alumbre, aloe vera y manzanilla para dar forma a los parches transdérmicos.

Tabla 1. Formulaciones de pectina para elaborar biopelículas.

INGREDIENTE	FORMULACIÓN 1	FORMULACIÓN 2	FORMULACIÓN 3	FORMULACIÓN 4
Pectina	5 g	5 g	5 g	11 g
Alcohol polivinílico	5 g	8 g	11 g	5 g
Glicerina	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml
Acido benzoico	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml
Agua destilada	50 ml	50 ml	50 ml	50 ml

Tabla 1-A . Formulación 5

INGREDIENTE	FORMULACIÓN 5
Pectina	2.11 g
Alcohol polivinílico	5.0 g
Glicerina	5.0 ml
Acido benzoico al 0.1 %	2.0 ml
Agua destilada	50 ml

Análisis de la figura 3: La apariencia de los parches transdérmicos elaborados es buena y se adhieren con facilidad a la piel humana.

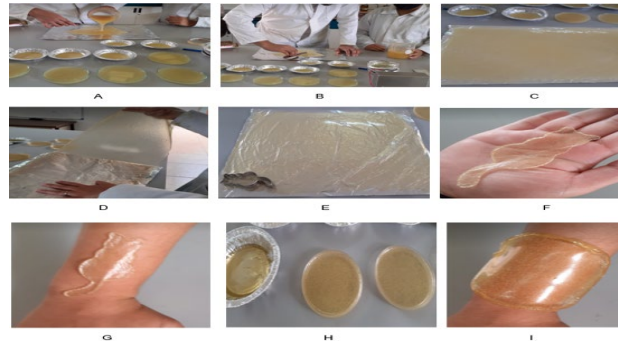


Fig. 3 Moldeado de los parches transdérmicos con la formulación 5. Fuente propia

Tabla 3. Composición de las formulaciones 4, 4a y 4b.

Ingrediente	Fomulación 4	Formulación 4a	Formulación 4b
Lignina	0.500 g	0.250 g	0.252
Almidón de maíz	5.0 g	5.0 g	5.0g
Glicerina	5 ml	10 ml	15 ml
Agua destilada	50 ml	50 ml	50 ml

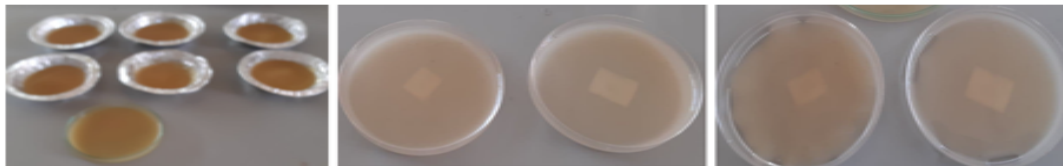


Fig. 7 Formulación 4, se separa el alumbre de la formulación. Fuente propia

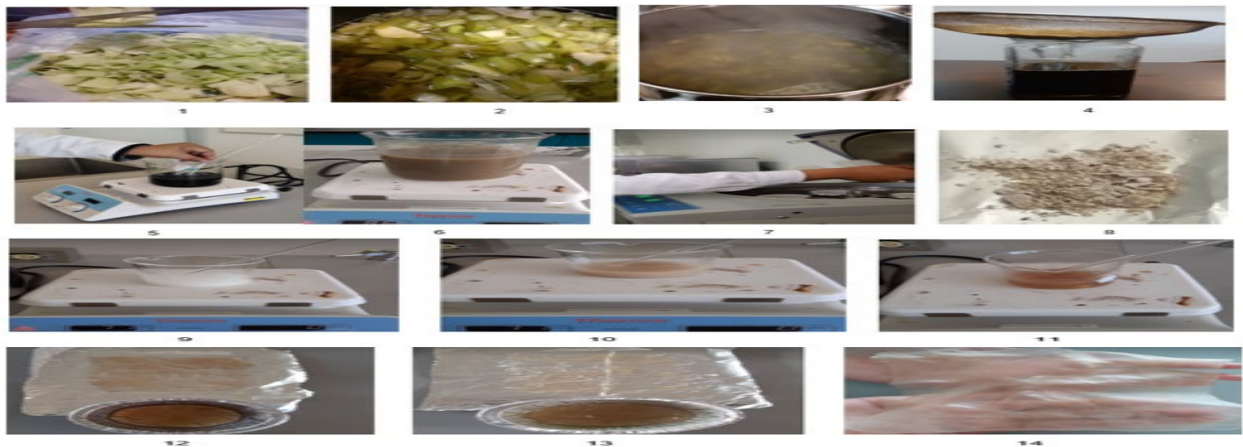


Fig. 4 Ilustración del proceso de elaboración de la biopelícula con lignina. Fuente propia.



Fig. 5 Aspecto de las biopelículas elaboradas con lignina. Fuente propia

Análisis de la figura 5: La formulación 1 como se aprecia en las fotografías presenta un aspecto bastante aceptable ya que no tiene aire atrapado y la lignina se integró bien al almidón, mientras que la formulación 2 tiene aire atrapado además de haberse contraído al secarse. Finalmente, la formulación con 1.5 g de lignina se observa más oscura.

La formulación 4 presenta un color oscuro debido a que tiene más lignina, por eso se disminuyó a la mitad en las formulaciones 4a y 4b. Las cuales se muestran más claras y al secarse no se separó el alumbre del parche.

PRUEBAS DE DESINTEGRACIÓN

Tabla 4. Tiempo de desintegración de los parches transdérmicos de lignina en agua y a 25°C

Agitación (R.P.M.)	50	100	150
Tiempo (Minutos)	149	75	50

Tabla 5. Tiempo de desintegración de los parches de pectina en agua a 25 °C

Agitación R.P.M.)	50	100	150
Tiempo (Minutos)	450	231	160

Tabla 6 Resultados de la prueba de desintegración de parches transdérmicos con pectina

Agitación R.P.M.)	50	100	150
Tiempo (Minutos)	960	500	350



Fig. 11 Parches transdérmico de pectina de forma pony y rectangular hecho de pectina, el de forma circular está hecho con lignina. Fuente propia

En la figura 12 se presentan parches transdérmicos con lignina, pero que solo tienen un ingrediente activo. De derecha a izquierda se tiene parche transdérmico con alumbre, al centro parche transdérmico con aloe vera y a la izquierda parche transdérmico con infusión de manzanilla. Estos parches se elaboraron así para probar la eficacia de cada uno de los ingredientes activos en ratones de laboratorio *Mus musculus*.

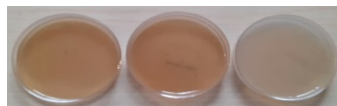


Fig. 12 Parches transdérmicos con lignina con un solo ingrediente activo cada uno como se describe en el texto. Fuente propia

**COMPROBACIÓN DE LA EFICACIA DE LOS PARCHES TRANSDÉRMICOS
EMPLEANDO RATONES DE LABORATORIO (*Mus musculus*)**

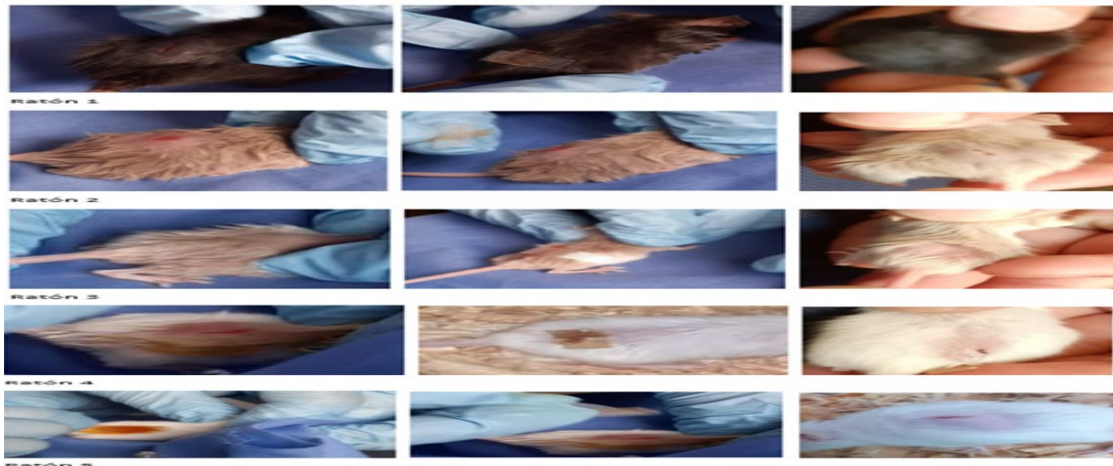


Fig. 14. Los cinco ratones con parche transdérmico a base de pectina con los 3 activos. De izquierda a derecha se observa la herida, al centro de cada foto la aplicación del parche y la derecha la cicatrización en 48 horas. Fuente propia



Figura 15. A los 5 días de aplicado el parche a base de lignina con activos, los ratones ya han sanado la herida, incluso hasta les ha crecido el pelo de nuevo. Se remarca con amarillo para mejor apreciación de la herida sanada. Fuente propia.

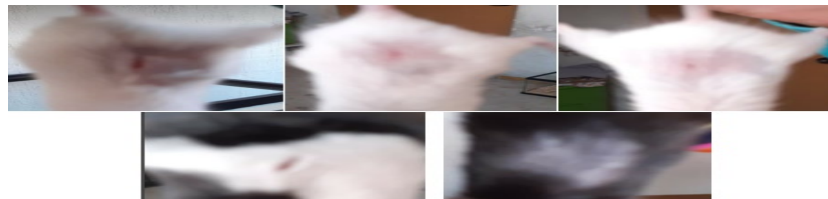


Figura 16. Ratones sin parche de ningún tipo. Fuente propia



Figura 17. Aspecto de la cicatrización de 5 ratones después de 48 horas de aplicación del parche lignina sin activos. Fuente propia



Figura 18. Ratones a los que se puso parches transdérmicos base lignina con alumbre. Fuente propia.



Figura 19. Ratones a los que se aplicaron parches transdérmicos base lignina con Aloe vera. Fuente propia.

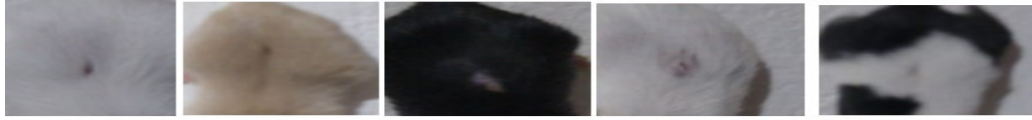


Figura 20. Ratones a los que se aplicaron parches transdérmicos base lignina e infusión de manzanilla. Fuente propia

CONCLUSIONES:

- Se elaboraron los parches transdérmicos de pectina y lignina con los activos de alumbre, aloe vera y extracto de manzanilla.
- De las formulaciones elaboradas con pectina, alcohol polivinílico, glicerina, ácido benzoico y agua destilada, la formulación 5 se eligió por presentar el mejor aspecto.
- De las formulaciones elaboradas con lignina, almidón de maíz y glicerina se eligió la 4b por presentar mejor aspecto y textura.
- El tiempo de desintegración de los parches transdérmicos fue menor para los parches transdérmicos elaborados con lignina que con pectina
- Los ratones tratados con parches transdérmicos base lignina y adicionados con Alumbre, Aloe vera y extracto de manzanilla cicatrizaron en 24 horas y a los 5 días no presentaron rastro de la herida
- Los ratones tratados con parches transdérmicos a base de pectina y adicionados con Alumbre, Aloe vera y extracto de manzanilla cicatrizaron en 48 horas y 5 días después presentaban todavía marca de cicatrización
- Los ratones tratados con parches transdérmicos que solo contenían lignina y sin activos cicatrizaron en 48 horas dejando marca de cicatrización cinco días después.
- Los ratones tratados con parches transdérmicos base de lignina y con alumbre cicatrizaron e 48 horas dejando también marca de cicatrización a los 5 días.
- Los ratones tratados con parches transdérmicos base de lignina y con aloe vera, cicatrizaron en 48 horas y a los 5 días no presentaron rastro de cicatrización.
- Finalmente los ratones tratados con parches transdérmicos a base de lignina y con manzanilla, cicatrizaron en 48 horas, dejando también huella de cicatrización.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Alarcón Galleguillos, María, & Fernández Da Silva, Rafael. (2013). Aplicación terapéutica del Aloe vera L. en Odontología. *Salus*, 17(3), 42-50. Recuperado en 04 de abril de 2018, de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-71382013000300007&lng=es&tlng=es.
2. Elena del Águila Cano, María Ángeles del Águila Cano, y María del Pilar Segura Sánchez. **Identificación y actuación sanitaria sobre los distintos tipos de quemaduras.** *Salud y cuidados durante el desarrollo. Volumen 1 73 . CAPÍTULO 10.* Edit. ASUNIVEP. 2017.
3. David Protopio¹, Jorge Torres¹, Erick Valdivia¹, Elmer Salinas P.¹, Margot de los Ríos (2011). **EFFECTO DEL ALOE VERA EN LA CICATRIZACIÓN DE LESIONES GINGIVALES.** *Revista Científica del Sur.* Revista P. 98-103. Revisado en 6 de abril de 2018, de https://www.cientifica.edu.pe/sites/default/files/cientifica8_2.pdf
4. Ferraro, GM. (2009). Revisión de la aloe vera (*Barbadensis Miller*) en la dermatología actual. *Revista argentina de dermatología*, 90(4), 00. Recuperado en 08 de abril de 2018, de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-300X2009000400004&lng=es&tlng=es.
5. Gallegos-Zurita, Maritza, & Gallegos-Z, Diana. (2017). Medicinal plants used for treatment of skin diseases in rural communities in Los Ríos province, Ecuador. *Anales de la Facultad de Medicina*, 78(3), 315-321. <https://dx.doi.org/10.15381/anales.v78i3.13767>

CARACTERIZACIÓN MECÁNICA DE UNA PELÍCULA DE XILOGLUCANO
OBTENIDO A PARTIR DE SEMILLAS DE *TAMARINDUS INDICA* L. Y
DIFERENTES PLASTIFICANTES

Valeria Espíndola–Sotres¹, Elsa Gutiérrez–Cortez², Juana I. Rojas–Molina¹,
Susana A. Macín-Cabrera³, Carlos T. Quirino–Barreda^{4*}

¹ Laboratorio de Investigación Química y Farmacológica de Productos Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

² Laboratorio de procesos en Ingeniería Agroalimentaria; FES-Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México.

³ Departamento de Atención a la Salud y ⁴ Departamento de Sistemas Biológicos, Laboratorio de Farmacia Molecular y Liberación Controlada, Universidad Autónoma Metropolitana- Xochimilco.

*Autor Corresponding: E-mail: cquirino@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: películas, plastificantes, xiloglucano.

INTRODUCCIÓN:

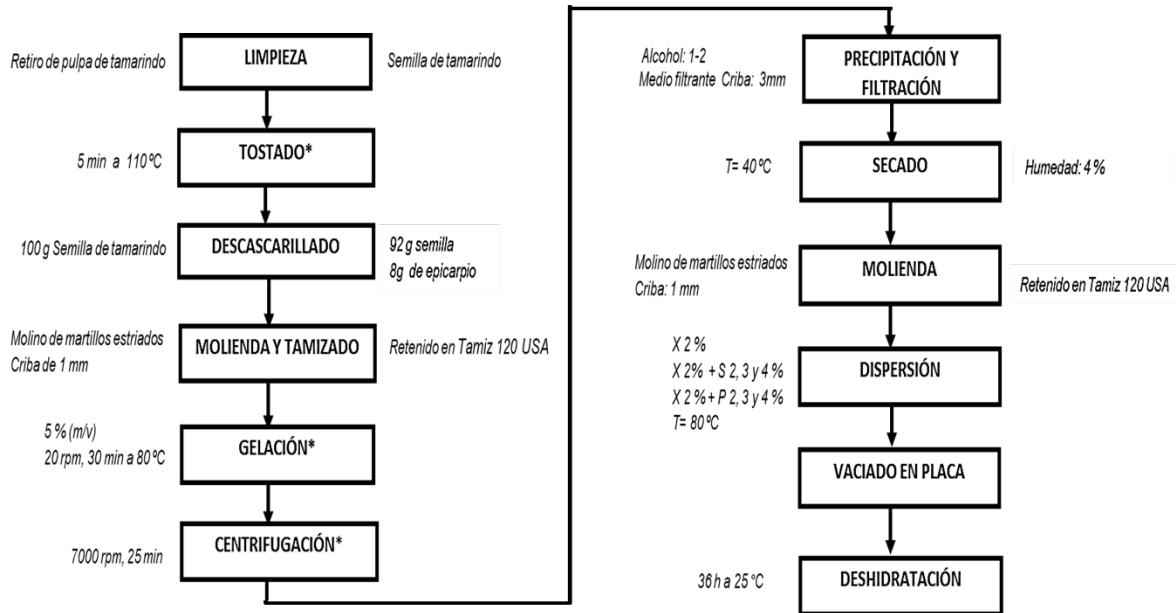
Una película biodegradable es una matriz delgada obtenida por moldeo, que de acuerdo con su composición puede ser utilizada con diferentes fines: comestible, transportadora de fármacos, cosmética, etc.¹. Estas matrices se obtienen a partir de dispersiones conformadas por polisacáridos, proteínas, lípidos o por una mezcla de éstos, en disolventes como: agua, etanol o una mezcla de disolventes; además, las formulaciones se pueden adicionar con plastificantes para modificar sus propiedades mecánicas, de acuerdo con la aplicación deseada². Actualmente, en la industria farmacéutica las películas se pueden utilizar para controlar la liberación de un principio activo, preparar formas farmacéuticas con recubrimiento entérico, así como enmascarar sabores³. Su objetivo también puede ser actuar como barrera en cápsulas y tabletas frente al oxígeno, vapor de agua y la luz durante el almacenamiento. Además, las películas pueden utilizarse como parches que se adhieren a una superficie como la mucosa bucal o el esmalte dental para una acción local o transdérmica⁴. En este contexto, es de interés utilizar biopolímeros formadores de películas bioadhesivas, tal es el caso del xiloglucano que al ser mezclado con sorbitol y/o propilenglicol como plastificantes, pueden dar lugar a películas transportadoras de fármacos como los antimicrobianos⁵. Por lo que este trabajo muestra el proceso de extracción-purificación de xiloglucano a partir de semillas de *Tamarindus indica* L. y la evaluación de las propiedades mecánicas de una película obtenida con esta materia prima, el cual es parte de un proyecto interinstitucional en el que se pretende desarrollar un sistema pelicular capaz de liberar agentes antimicrobianos para acción local y sostenida o prolongada sobre la biopelícula de placa dental.

OBJETIVO (S):

Identificar el efecto del sorbitol y propilenglicol como plastificantes en la formación y las propiedades mecánicas de una película de xiloglucano.

MATERIALES Y MÉTODOS:

El proceso de extracción de xiloglucano de acuerdo con Espíndola- Sotres (2020) y obtención de las películas de acuerdo con Fakhoury et al., (2012), se muestra en la Figura 1.



Pruebas de textura

Los parámetros mecánicos fueron determinados con un texturómetro (Texture Analyzer Brookfield) con el accesorio TA18. El equipo se calibró con una compresión TPA a una velocidad de 1.7 mm/s, una distancia de 15 mm una carga de 0.05 N, se seleccionaron dos ciclos de medición para determinar la dureza, la fracturabilidad y la longitud de extensibilidad. La prueba se realizó por triplicado (Galus y Lenart, 2019).

Microscopía electrónica de barrido

Se colocaron muestras de películas del tamaño de 3 mm por lado, en un porta-muestras de bronce y posteriormente dar el baño de oro con un cobertor iónico marca Denton Vacuum modelo DESK-V, las muestras se analizaron con un microscopio electrónico marca JOEL modelo JSM-6010LA, donde se enfocaron las muestras en aumentos de 500X y 1000X (Thakur et al., 2017).

RESULTADOS:

Los resultados de la caracterización mecánica se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Propiedades mecánicas de las películas de xilogucano

Muestra	Espesor (mm)	Dureza o Resistencia al impacto (kg)	Fracturabilidad o Resistencia al corte (kg)	Extensibilidad (mm)
X 2%	0.1 ± 0.02 ^a	1356 ± 10 ^a	1118 ± 10 ^a	5.92 ± 0.1 ^a
X 2% + S 2%	0.1 ± 0.02 ^a	14569.6 ± 145 ^b	14023.3 ± 140 ^b	9.36 ± 0.79 ^b
X 2% + S 3%	0.1 ± 0.02 ^a	13971.3 ± 139 ^c	13758.6 ± 135 ^c	5.15 ± 0.1 ^c
X 2% + S 4%	0.17 ± 0.02 ^b	14132.6 ± 140 ^c	13119.3 ± 130 ^d	0.38 ± 0.03 ^d
X 2% + P 2%	0.11 ± 0.02 ^a	13363 ± 133 ^d	12702 ± 120 ^e	3.37 ± 0.01 ^e
X 2% + P 3%	0.12 ± 0.02 ^a	11186.6 ± 110 ^e	11186.6 ± 111 ^e	12.79 ± 0.79 ^f
X 2% + P 4%	0.15 ± 0.02 ^b	9934 ± 110 ^e	9934 ± 100 ^f	12.7 ± 0.79 ^f

X: xilogucano; S: sorbitol, P: propilenglicol

Los datos representan la media ± DS (n=3), el análisis estadístico fue realizado mediante ANOVA de una vía con una prueba *post hoc* de Tukey. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa ($p \leq 0.05$).

Las micrografías de las películas de xilogucano se observan a continuación en la Figura 2.

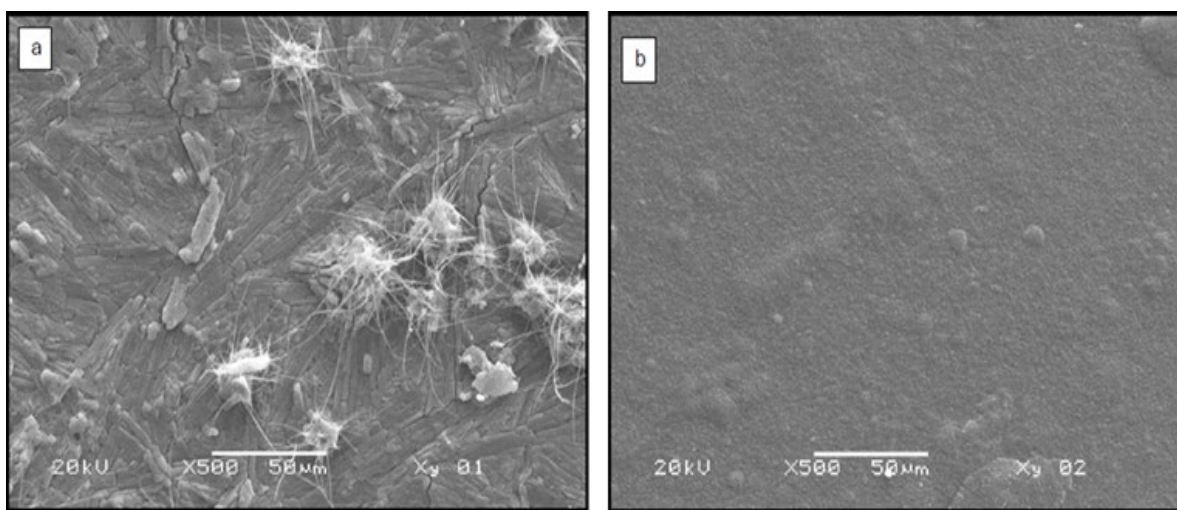


Figura 3. Morfología (superficie) de las películas: a) xilogucano-sorbitol, b) xilogucano-propilenglicol

CONCLUSIONES:

1. El proceso de extracción-purificación de xilogucano a partir de semillas de *Tamarindus indica L.*, nos permitió obtener una materia prima apta para la formulación farmacéutica.
2. La formación de películas con xilogucano como único componente son altamente quebradizas por lo que requiere de plastificantes como sorbitol y propilenglicol para obtener una película con mejores propiedades mecánicas de resistencia, extensión y adhesión.

3. En parámetros de textura, en las formulaciones con propilenglicol el incremento en la proporción de plastificante disminuye la dureza y resistencia a la fractura, pero aumenta la extensibilidad de la película. En cambio, con el sorbitol el incremento en la proporción de plastificante disminuye los tres parámetros.
4. Considerando los resultados se determina que la formulación con sorbitol al 2 % proporciona los parámetros mecánicos con mayor potencial para su aplicación sobre el esmalte dental; quedando pendiente evaluar su adhesividad.
5. La diferencia observada de rugosidad superficial de las películas obtenidas, se atribuye a las distintas interacciones entre el xiloglucano y cada plastificante, se requiere evaluar su efecto sobre la adhesión.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Del-Valle, V.; Hernández-Muñoz, P.; Guarda, A.; Galotto, M. (2005). *Food Chem.* 91(4): 751-756.
2. Vasconez, M.; Flores, S.; Campos, C.; Alvarado, J.; Gerschenson, L. (2019). *Food Res. Int.* 762 -769.
3. Jiang, H., Xiaoyun, H., Zhili, L., Xincheng, C., Yunhua, H., Ligang, G., Decai, L., Xinrui, L., Tiling, F. (2012). *Colloids Surf. A.* 401: 74-80.
4. de Souza, J. L. S., Alves, T., Camerini, L., Nedel, F., Campos, A. D., Lund, R. G. (2021). *Sci. Rep.* 11(1): 1-10.
5. Timur, S. S., Yüksel, S., Akca, G., Şenel, S. (2019). *Int. J. Pharm.* 559: 102-112.
6. Espíndola-Sotres, V. (2020). Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Querétaro.
7. Fakhoury, F.M., Martelli, S.M., Bertan, L., Yamashita, F., Innocentini-Mejía, L., Collares, Q.P. (2012). *Food Sci. Technol.* 49: 149-154.
8. Galus, S., Lenart, A. (2019). *Journal of Food Process Engineering.* 42(6): 1-10.
9. Thakur, Rahul; Pristijono, Penta; Golding, John B.; Stathopoulos, Costas E.; Scarlett, Christopher J.; Bowyer, Michael; Singh, Sukhvinder P.; Vuong, Quan V. (2017). *Food Packag. Shelf Life.* 14: 108–115.

DISEÑO Y EVALUACIÓN *IN VITRO* DE IMPLANTES DE FORMACIÓN *IN SITU* A BASE DE PLGA (VIATEL®)

Nayelli Campos Morales¹, María Josefa Bernard Bernard², Viridiana Gisela Llera Rojas² Carlos Tomás Quirino Barrera¹, Jorge Esteban Miranda Calderón¹

¹ Universidad Autónoma Metropolitana

² Universidad Autónoma de México

Autor de correspondencia:

Correo: j.miranda@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: ISFI, PLGA, Doxiciclina, Liberación controlada

1. INTRODUCCIÓN:

La liberación sostenida permite una reducción en la dosificación comparada con la forma convencional en la que se encuentra el fármaco [Gad, 2008]. Un sistema de liberación controlada de fármacos cumple principalmente dos funciones, la primera es el transporte del fármaco a un sitio particular del organismo y la segunda se refiere a que la liberación va a ocurrir de manera controlada dependiendo de la preparación de formas farmacéuticas, esto determina la velocidad a la que el fármaco se encontrará disponible en el organismo [Gad, 2008]. Los implantes de formación *in situ* consisten en soluciones poliméricas que precipitan en el lugar de la inyección y forman así un depósito de elución de fármaco. La liberación se divide típicamente en tres fases: explosión durante la precipitación del depósito, difusión del fármaco a través de la matriz polimérica y finalmente la liberación del fármaco por degradación del sistema [Parent, et al. 2013]. El poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) se utiliza con frecuencia como matriz en sistemas de administración de fármacos controlados por vía parenteral. Es biocompatible, ofrece una gran variedad de rutas de degradación y liberación del fármaco. Se degrada a ácido glicólico y ácido láctico [Lizambard, et al. 2019]. La doxiciclina es una tetraciclina sintética, además de las propiedades antibacterianas de amplio espectro que posee esta molécula, se han descubierto propiedades antiinflamatorias interesantes que la han convertido en una posible opción terapéutica en múltiples enfermedades [Navarro-Treviño, et al. 2020].

2. OBJETIVO GENERAL

Diseñar y evaluar implantes *in situ* a base de PLGA, determinado por un diseño de experimentos para obtener una liberación sostenida de hielato de doxiciclina durante 7 días.

2 MATERIALES Y MÉTODOS:

3.1 Materiales y equipos

Hielato de doxiciclina, ácido esteárico, N-metilpirrolidona, Viatel (PLGA 75:25, 50:50, 85:15). Membrana de diálisis. Espectrofotómetro UV-Vis, Shimadzu. Disolutor, VanKel. Texturómetro, Agrosta. Calorimetría diferencial de barrido, NETZCH. Liofilizadora, LABCONCO-TRIAD. Microscopía electrónica de barrido, Optoedu.

3.2 Metodología

3.2.1 Lineamientos de calidad por el diseño: Se realizó la investigación de conceptos, evaluación del solvente, barrido, curva de calibración y pruebas de formación.

3.2.2 Propuestas de formulación: Se pesaron diferentes cantidades de polímero PLGA 50:50, así como de ácido esteárico y fármaco. Se inyectó 1 mL de la formulación en 5 mL de buffer de

fosfatos 7.4 y se dejó en oscuridad por 7 días a temperatura ambiente, sin agitación y se realizó reposición de medio y se cuantificaron los resultados.

3.2.3 Modelo estadístico: Se tienen los factores: polímero, aditivo y fármaco, a dos niveles cada uno, incluyendo un punto central, teniendo como variable de respuesta: efecto burst, segundo y sexto día de formación. El punto central se realiza por triplicado. Se dejaron por 7 días en un baño de agitación a $37 \pm 5^\circ\text{C}$ a 20 rpm en oscuridad y se realizó un cambio de medio en tiempos establecidos y se leyó en el espectrofotómetro a 276 nm posteriormente se graficó su liberación.

3.2.4 Liberación *in vitro* en membranas de diálisis: Se inyectó 1 mL de la formulación 4 central en una bolsa de membrana de diálisis que contenía 5 mL de buffer de fosfatos 7.4 y se ingresó en los vasos con 400 mL de buffer de fosfatos 7.4, se realiza por triplicado y se mantendrán a 37°C en un agitador orbital incubado a 50 RPM. La solución se muestrea 3 mL cada hora las primeras 6 horas y cada dos horas hasta cumplir 12 horas y se cuantifican los resultados.

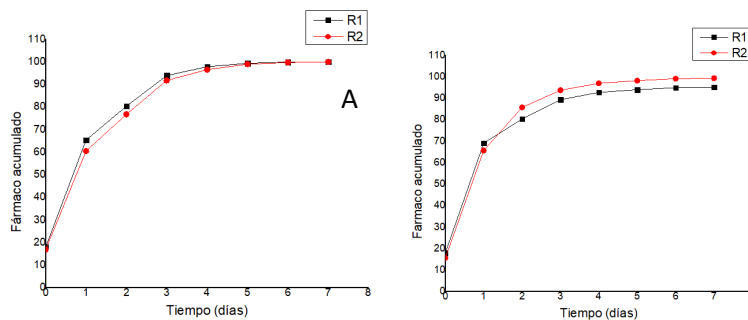
3.2.5 Caracterización morfológica



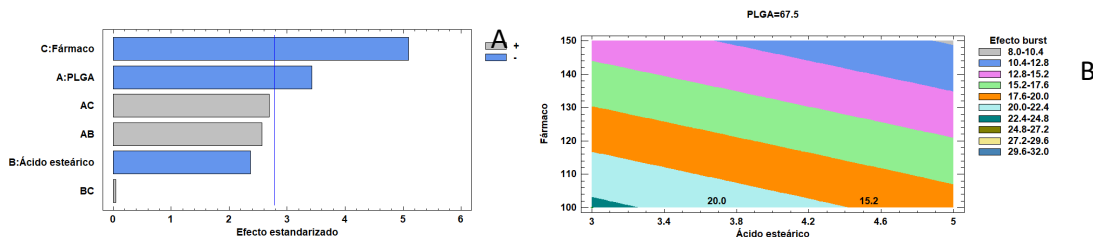
4. RESULTADOS:

4.1 Lineamientos de calidad por el diseño: Se conoce función, descripción, PM, solubilidad de PLGA, hclato de doxiciclina, NMP y ácido esteárico. Solubilidad: NMP solubiliza fármaco y polímero. Barrido: Longitud de onda: 276 nm. Curva de calibración: $IC \pm 25.03, 27.05$ y $r^2 = 0.99$. Pruebas de formación: Conocimiento previo para las propuestas de formulación de implantes.

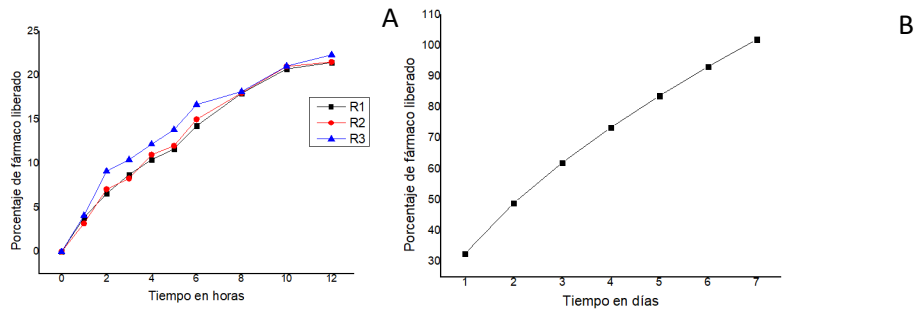
4.2 Propuestas de formulación



4.3 Modelo estadístico



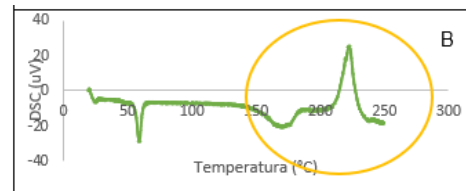
4.3 Liberación *in vitro* en membranas de diálisis



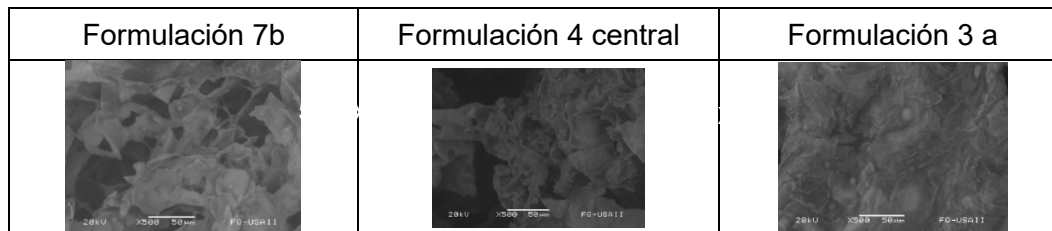
4.2 Evaluación morfológica

Análisis de textura y DSC

Formulación	Dureza	Elasticidad
7b	5.06 N	3517.5 %
4c	9.62 N	1719.9%
3a	9.62 N	1207.5%



Microscopía electrónica de barrido



5. CONCLUSIONES:

Se realiza una formulación que sigue los lineamientos de QbD, determinando así el espacio de conocimientos mediante un diseño de experimentos. La liberación a través de membranas de diálisis permitió una proyección a 7 días, caracterizando así la liberación al conocer el modelo al que se ajusta el diseño. La revisión de las características fisicoquímicas y morfológicas ayudaron a comprender el comportamiento de los implantes en la liberación del fármaco en diferentes formulaciones.

6. BIBLIOGRAFÍA:

- Gad, S. C. (2008). *Pharmaceutical Manufacturing Handbook*. Wiley.
- Parent, M., Nouvel, C., Koerber, M., Sapin, A., Maincent, P., & Boudier, A. (2013). PLGA in situ implants formed by phase inversion: Critical physicochemical parameters to modulate drug release. *Journal of Controlled Release*, 172(1), 292-304. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.08.024>
- Lizambard, M., Menu, T., Fossart, M., Bassand, C., Agossa, K., Huck, O., Neut, C., & Siepmann, F. (2019). In-situ forming implants for the treatment of periodontal diseases: Simultaneous controlled release of an antiseptic and an anti-inflammatory drug. *International Journal of Pharmaceutics*, 572, 118833. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118833>
- Navarro-Triviño, F. J., Pérez-López, I., & Ruíz-Villaverde, R. (2020). Doxycycline, an antibiotic or an anti-inflammatory agent? The Most Common uses in dermatology. *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition)*, 111(7), 561-566. <https://doi.org/10.1016/j.adengl.2019.12.014>

DETERMINACIÓN DEL DESEMPEÑO DE LA HARINA DE MEZQUITE APLICANDO EL SISTEMA EXPERTO SEDEM

Verónica Rodríguez Guerrero¹, Oswaldo Castañeda Hernández², Aline Cristina Cazares Solis¹ y Luz María Melgoza Contreras*¹.

Correo: lmelgoza@correo.xoc.uam.mx

¹Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Sistemas Biológicos, Ciudad de México, México. ²Universidad Autónoma Metropolitana, Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, Ciudad de México, México

Palabras clave: Antiparasitarios, Harina mezquite, Sistema SeDeM, compresión directa.

INTRODUCCIÓN:

El mezquite (*Prosopis spp.*) es una leguminosa distribuida en regiones áridas, semiáridas y de climas cálidos de la República Mexicana. Los pueblos indígenas lo han usado como alimento y como remedios para varios padecimientos gastrointestinales tanto en humanos como en animales. (Reyes et al., 2017, Reyes-Guerrero, 2021). Tiene un uso potencial como antihelmíntico presentándose como una alternativa natural y barata en el control de nematodiasis en el ganado. Usando la harina de mezquite podrían fabricarse tabletas de liberación modificada para administrarlas con mayor facilidad y en dosis necesarias para el control del parásito.

El sistema SeDeM es una metodología aplicada en los estudios de preformulación de comprimidos, determina la capacidad de un polvo para usarse en la tecnología de compresión directa. El sistema determina 12 parámetros relacionados con el comportamiento reológico del polvo y a partir de éstos se calculan tres índices que permiten identificar la idoneidad del polvo para ser comprimido. En el presente trabajo se caracteriza la harina de mezquite utilizando el sistema SeDeM para identificar si es apta para la tecnología de compresión directa y así, proponerse la elaboración de comprimidos para su utilización en el tratamiento de la infección por *Haemonchus. contortus* en ovejas.

OBJETIVO

Aplicar el sistema SeDeM, para determinar la capacidad de la harina de mezquite en la elaboración de tabletas por compresión directa.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Los 12 parámetros que se requieren en la obtención del diagrama SeDeM son:

Densidad aparente y compactada (Da y Dc), usando el método de la probeta de la MGA 1061 de la FEUM (2014).

Índice de esponjosidad (Ie), Índice de Carr (IC), Índice de Hausner (IH), se utilizan los datos de las densidades anteriores para calcularlos.

Índice de cohesividad (Icd). Se determinó comprimiendo una mezcla de mezquite, talco (2.36%), Aerosil® 200 (0.14%) y estearato de magnesio (1%) en una tableteadora rotativa, Riva Piccola B-10 aplicando la mayor fuerza de compresión posible. A los comprimidos finales se les determinó la dureza. (Suñe *et al.*, 2013).

Ángulo de reposo (α) y tiempo de flujo. El ángulo de reposo se determinó siguiendo la MGA 1061 de la FEUM (2014). Y se tomó el tiempo que tarda el polvo en fluir a través del embudo en segundos.

Humedad relativa (%HR) e Higroscopicidad La humedad relativa se determinó con 1g de muestra en una termobalanza ROCA® y la higroscopicidad se calculó como el porcentaje de peso de humedad adsorbida por la muestra.

Índice de homogeneidad (I Θ). La determinación del tamaño de partícula se realizó en un analizador láser de tamaño de partículas LA-950V2 HORIBA, usando el módulo de dispersión en seco. (Suñe, *et al.*, 2013):

Porcentaje de partículas menores a 50 μ m (%Pf). Se realizó junto con la prueba de índice de homogeneidad.

PROCESAMIENTO DE LOS DATOS

Una vez establecidos los 12 parámetros del diagrama SeDeM, se obtuvieron los valores radiales usando los factores que establece Suñe y colaboradores (2013). A partir de los parámetros obtenidos, se calcularon los índices: paramétrico (IP), de perfil paramétrico (IPP) y el Índice de Buena compresión (IGC).

RESULTADOS:

En la tabla 1 se resumen los resultados.

Tabla 1. Parámetros, media de incidencia e índices de aceptación

Factor de incidencia	Parámetro	Valor experimental	Valor radial	Media de Incidencia
Dimensional	Da (g/mL)	0.42	4.24	5.31
	Dc (g/mL)	0.64	6.38	
Compresibilidad	Ie	0.14	1.18	2.88
	IC	33.42	6.68	
	Icd (N)	15.41	0.77	
Deslizamiento/fluidez	IH	1.50	7.49	6.45
	α ($^{\circ}$)	30.14	3.97	
	t" (s)	4.19	7.91	
Lubricación/estabilidad	%HR (%)	4.96	3.60	5.13
	%H (%)	6.66	6.67	
Lubricación/dosificación	%Pf (%)	20.21	5.96	4.32
	I Θ	0.0054	2.68	
Índice Paramétrico (IP)		0.50		
Índice de perfil paramétrico (IPP)		4.79		
Índice de Buena Compresión (IGC)		4.56		

Según Scholtz *et al.* (2017), al presentar valores menores a 5 se consideraría que la harina de mezquite no es apta para la compresión directa, pero para mejorar el desempeño de la harina de mezquite en compresión directa se sugiere utilizar un excipiente adecuado para corregir los factores de compresibilidad y de lubricación/dosificación.

Los valores radiales se representan de forma gráfica en la Figura 1, donde los parámetros con poca área sombreada representan una deficiencia de la harina.

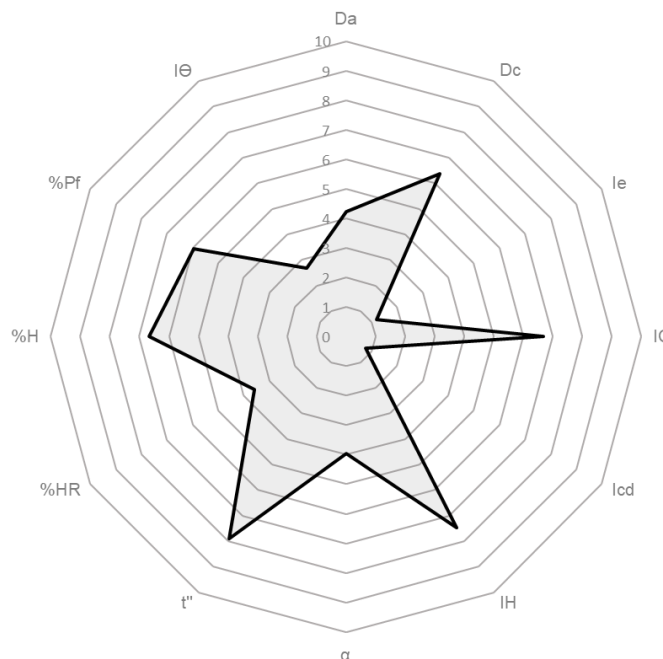


Figura 1. Diagrama SeDeM de la harina de mezquite

CONCLUSIONES:

El sistema experto SeDeM, puede ser una opción adecuada para identificar si algunos productos herbales son aptos para ser utilizados por la tecnología de compresión directa, como en el caso de la harina de mezquite y así identificar características a corregir que ayuden con su posterior procesamiento en una forma farmacéutica.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) 11 ed. México; **2014**. Secretaría de Salud, Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.
2. Reyes-Guerrero, D. E., Olmedo-Juárez, A., & Mendoza-de Gives, P. **2021**. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, 12, 186–204.
3. Reyes, L. G., Sandoval, S., Méndez, L. L., & Barriada, L. G. **2017**. XXXVIII Encuentro Nacional DeLa AMIDIQ, 1933-1938.
4. Scholtz, J. C., Steenekamp, J. H., Hamman, J. H., & Tiedt, L. R. **2017**. Powder Technology, 312, 222–236.
5. Suñe, J. M., Roig Carreras, M., García, R. F., Montoya, E. G., Lozano, P. P., Aguilar, J. E., Carmona, M. M., & Ticó Grau, J. R. **2013**. Formulation Tools for Pharmaceutical Development, 109–135.

DESARROLLO Y EVALUACIÓN *IN VITRO* DE TABLETAS FLOTANTES DE GLIPIZIDA

María Magdalena González Buendía¹, Oswaldo Castañeda Hernández², Isidoro Caraballo Rodríguez³, Luz María Melgoza Contreras*.

Correo: lmelgoza@correo.xoc.uam.mx

¹Universidad Autónoma Metropolitana, Maestría en Ciencias Farmacéuticas, Ciudad de México, México.

²Universidad Autónoma Metropolitana, Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, Ciudad de México, México

³Universidad de Sevilla, Facultad de Farmacia, Sevilla, España.

⁴Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Sistemas Biológicos, Ciudad de México, México.

Palabras clave: diabetes, glipizida, gastro-retención.

INTRODUCCIÓN: A nivel mundial la diabetes tipo 2 (DBT2) es una de las enfermedades crónicas más frecuentes en adultos y una de las principales causas de ceguera e insuficiencia renal crónica¹. Se cuenta con diferentes fármacos para el tratamiento de la DBT2 entre ellos la glipizida (GPZ), una sulfonilurea de segunda generación con una vida media corta que se comercializa en tabletas de liberación inmediata y sistemas osmóticos^{2,3}. Actualmente, los sistemas de administración de fármacos gastro-retentivos reciben una gran atención porque, incrementan la biodisponibilidad de los fármacos caracterizados por tener una ventana de absorción estrecha limitada al tracto gastrointestinal superior, así como, fármacos con vida media corta y baja solubilidad intestinal⁴. La gastro-retención se puede lograr mediante el desarrollo de diferentes sistemas como sistemas de alta densidad, flotantes, mucoadhesivos y expandibles⁵. En este proyecto se realizó el desarrollo de tabletas flotantes con 10 mg de glipizida empleando el bicarbonato de sodio como agente promotor de la efervescencia.

OBJETIVO GENERAL: Desarrollar y evaluar *in vitro* tabletas flotantes de glipizida (10 mg) con tiempos de flotación y liberación de 24 horas en medio ácido.

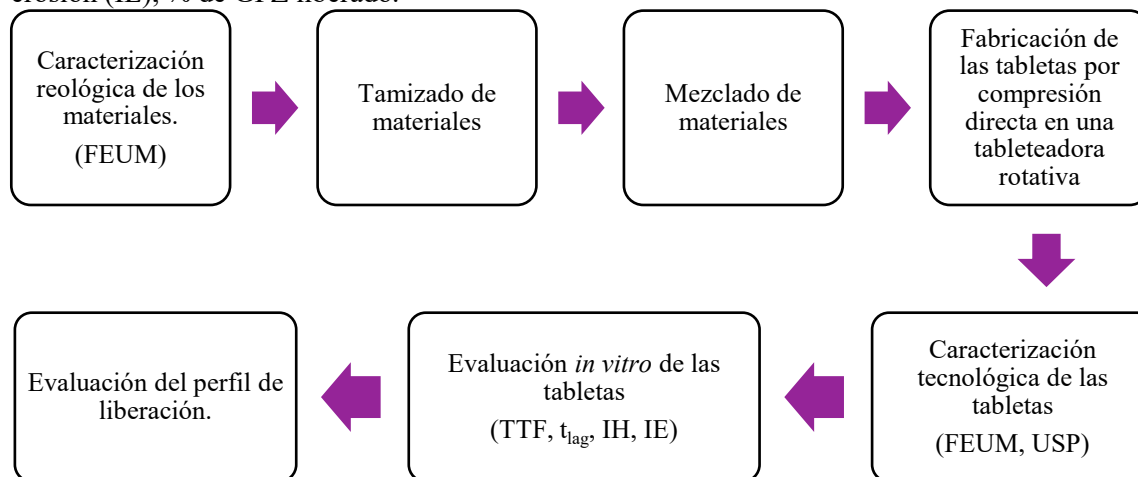
MATERIALES Y MÉTODOS:

Materiales: Glipizida, Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) K100M, Carbómero 71G, estearato de magnesio, bicarbonato de sodio, celulosa microcristalina tipo PH 102.

Métodos: Para la fabricación de las tabletas flotantes de GPZ se planteó un diseño factorial 2² de acuerdo con lo siguiente:

Factores: HPMC K100M (8-15%) y Carbómero 71G (5-10%). Manteniendo fija la cantidad de Bicarbonato de sodio (3%) y estearato de magnesio (0.5%).

Variables de respuesta: Tiempo total de flotación (TTF), t_{lag}, índice de hinchamiento (IH), índice de erosión (IE), % de GPZ liberado.



RESULTADOS:

Tabla 1. Caracterización reológica de la glipizida y excipientes, se presenta el promedio (n=3).

Material	Índice de Carr	Índice de Hausner	Velocidad de flujo (g/s)	Ángulo de reposo	Propiedades de flujo
Glipizida USP	35.79	1.55	0.71*	37.55	Muy pobres
HPMC K100M	27.11	1.37	2.79	35.68	Pobres
CBM 71G	13.73	1.15	9.77	30.25	Buenas
CMC PH 102	21.91	1.28	32.73	32.63	Aceptables
Bicarbonato de sodio	12.10	1.13	51.38	26.58	Buenas

*Flujo forzado por movimiento con espátula

Tabla 2. Caracterización tecnológica de las tabletas flotantes. Se presenta la Media ± DE

Lote	Friabilidad (%)	Variación de peso (mg)	Resistencia a la ruptura (kp)	Valoración (%)	Uniformidad de contenido (%)
1	0.08	197.39±1.28	6.48±0.32	99.89±0.13	98.30±3.29
2	0.09	199.42±1.54	6.80±0.59	95.32±0.94	94.33±3.61
3	0.09	200.45±1.08	7.27±0.29	99.62±1.44	98.24±3.94
4	0.09	200.12±1.90	6.84±0.53	97.28±1.19	97.36±4.13

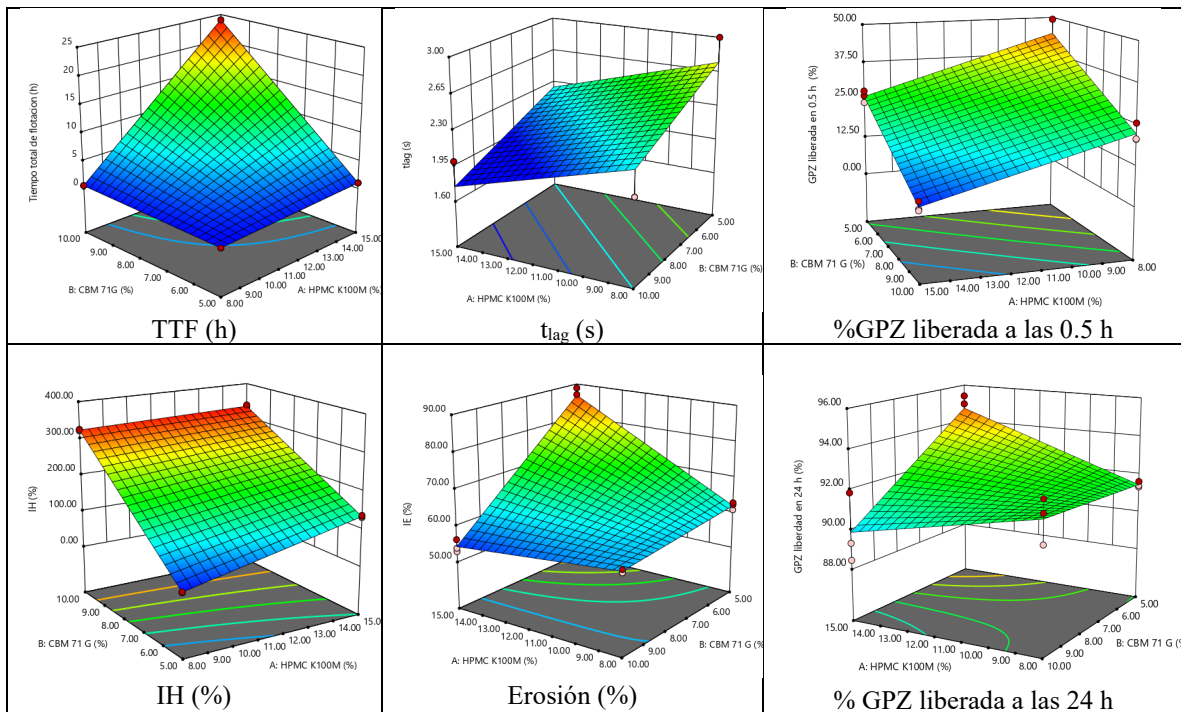


Figura 1. Gráficos superficie repuesta de la evaluación *in vitro* de las tabletas flotantes

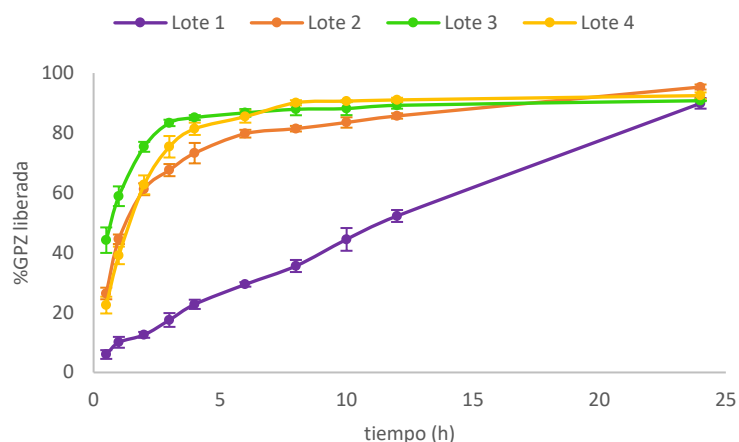


Figura 21. Perfiles de disolución de las tabletas flotantes (n=3)

CONCLUSIONES:

1. Los excipientes seleccionados para la formulación cumplen con las características reológicas para emplearlos en compresión directa.
2. Las tabletas cumplen con los atributos críticos de calidad de acuerdo con lo establecido en la FEUM 11ª edición, USP 41 y los establecidos de manera interna.
3. Al estar los polímeros en el nivel alto, el tiempo total de flotación y el índice de hinchamiento aumentan y el t_{lag} , el índice de erosión y la liberación de la glipizida disminuyen.
4. La formulación que tuvo mejor desempeño fue el lote 1, ya que flotó durante 24 horas y liberó el 89.88% de glipizida a velocidad constante.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Chaturvedi R, Desai C, Patel P, Shah A, Dikshit RK. An evaluation of the impact of antidiabetic medication on treatment satisfaction and quality of life in patients of diabetes mellitus. *Perspect Clin Res.* 2018;9(1):15-22.
2. Kalam MA, Alshamsan A, Alkholief M, *et al.* Solubility Measurement and Various Solubility Parameters of Glipizide in Different Neat Solvents. *ACS Omega.* 2020;5(3):1708-1716
3. Batool F, Ahmad M, Minhas MU, *et al.* Use of Glutaric Acid to Improve the Solubility and Dissolution Profile of Glipizide through Pharmaceutical Cocrystallization. *Acta Pol. Pharm.* 2019;76(1), 103-114.
4. Gupta R, Tripathi P, Bhardwaj P, & Mahor A. Recent advances in gastro retentive drug delivery systems and its application on treatment of *H. Pylori* infections. *JAPRL.* 2018;7(4), 404-410.
5. Bahadur S, Sahu M, Baghel P, Yadu K, & Naurange T. An overview on various types of gastroretentive drug delivery system. *ScienceRise.* 2020;6(28), 4-13.

SISTEMA ENSAMBLE PARA EL CULTIVO Y PROCESAMIENTO DEL *Sphenarium purpurascens* Ch. (CHAPULÍN), COMO FUENTE ALIMENTICIA CON POTENCIAL NUTRACÉUTICO

Hernández García, Ángel Danie¹; Quirino-Barreda, Carlos Tomás²; Méndez Zepeda Christian³

¹Licenciatura en Diseño Industrial; ²Departamento de Sistemas Biológicos, Área de Tecnología Farmacéutica, Laboratorio de Farmacia Molecular y Liberación Controlada; ³Departamento de Síntesis Creativa, División de Ciencias y Artes para el Diseño.
Universidad Autónoma Metropolitana- Xochimilco.

*Autor de correspondencia: E-mail: cquirino@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: Chapulín, *Sphenarium purpurascens*, cultivo, alternativas alimentaria, nutraceuticos.

INTRODUCCIÓN: (Máximo 600 palabras)

Si bien el consumo, recolección o crianza de chapulines (*Sphenarium purpurascens* Ch.) como una de las especies de insectos comestibles desde los pueblos originarios hasta la cocina de autor es de lo más ampliamente difundido en México como alimento alternativo (Melo-Ruíz, et al., 2013) y por su alto valor nutraceutico (Melo-Ruíz, et al., 2015; Melo-Ruíz, et al., 2019) se puede decir que desde su crianza o recolección, hasta su distribución comercial, aún se encuentra en estado emergente; ya que en la mayoría de casos, el control en la recolección o la crianza como medios de abasto, así como en la cadena de distribución, es nulo o deficiente (Aquino-Olmedo, 2015; Ibarra-Herrera, et al., 2020); no aprovechándose en ciertos casos su desarrollo en ciertas zonas agrícolas al ser considerados y tratados como una plaga (SENASICA, 2020). En el caso de los procesos que acompañan el cultivo del chapulín y su conversión en un producto alimentario aún se llevan a cabo de forma arcaica, ya que, en la mayoría de los casos, los chapulines no se cultivan en granjas de insectos, sino que se recolectan libremente en los campos (Hernández-Ramírez, et al., 2020). Ante este hecho es casi imposible tener un control de calidad y sanitario cauteloso, del mismo modo el proceso de transformación a producto alimentario una vez que son recolectados se encuentra sin estandarizar en la mayoría de los casos.

Desde hace varias décadas ha llamado la atención de los investigadores en nutrición el consumo de chapulines, ya que diversos estudios han demostrado su alto valor nutricional, superando, por ejemplo, a la carne vacuna. Es así, por ejemplo, que sólo en contenido de proteína por cada 100 g de masa seca, se han obtenido valores que oscilan entre 47 y 75 g (Melo-Ruíz, et al., 2015; Guzmán, 2018; Ibarra-Herrera, et al., 2020); habiéndose determinado también valores altos de otros nutrientes: 4.13 de grasas, 2.31 de carbohidratos y 19.5 de fibra.

Ante este escenario surge la necesidad de generar un sistema que permita la estandarización en la crianza y tratamiento de Chapulines comestibles, así como su tratamiento para transformarlos en un producto alimentario tipo harina, que permita ser formulado como nutraceutico o como suplemento alimenticio.

OBJETIVO:

Diseñar y optimizar un sistema ensamble que permita el cultivo controlado y estandarizado del *Sphenarium Purpurascens* Ch. (Chapulín) dentro de espacios controlados.

MATERIALES Y MÉTODOS:

El proceso de investigación que se utilizó para el diseño del sistema ensamble de cultivo del *S. purpurascens* inició con una investigación documental que sirvió para conocer las características biológicas y reproductivas de la especie, así como los requerimientos para su correcto desarrollo y cultivo.

Una vez abordada la parte teórica se procedió a generar una lluvia (bocetaje) de ideas con base a los requerimientos de cada una de las fases del ciclo de vida del insecto, previamente identificados, como son las condiciones de luz, humedad y temperatura. Una vez generadas las propuestas o bocetos suficientes, se realizó la selección de la opción más completa y esta misma se rediseñó tratando de mejorar los puntos más débiles con el fin de generar un diseño más completo.

El diseño del sistema ensamble para el cultivo de insectos se realizó con base a una serie de espacio que se resumen en la siguiente tabla, en la cual se puede apreciar cada estadio del ciclo biológico del *S. purpurascens* y sus necesidades de temperatura y humedad.

Numero de areas necesarias para la crianza del Chapulin por etapas de desarrollo

	Maximo	Minimo
Incubacion Dias: 166 +/- 3	7 Incubadoras	6 Incubadoras
Ninfa 1 Dias: 15.5 +/- 7.1	2 Camaras	1 Camara
Ninfa 2 Dias: 12.5 +/- 4.7	2 Camaras	1 Camara
Ninfa 3 Dias: 13.9 +/- 6.3	2 Camaras	1 Camara
Ninfa 4 Dias: 21.0 +/- 5.1	2 Camaras	1 Camara
Ninfa 5 Dias: 23.5 +/- 4.8	2 Camaras	1 Camara
Adulto y oviposicion Dias: 14	2 Camaras	1 Camara

RESULTADOS:

El resultado de la investigación y el proceso de diseño condujo a un sistema ensamble (figuras 1 y 2) que permite cultivar chapulines a través del uso de un mobiliario especial que se divide en 4 áreas principales donde serán colocadas las cajas de cultivo (figura 3), estas últimas serán los hábitats donde crezcan y se desarrollen los chapulines según su etapa biológica. Cada área cuenta con regulación térmica y de humedad que se controla a través de un sistema de lámparas de calor, ventiladores y termostatos.

Para el sano crecimiento de la especie se diseñaron cajas de cultivo especiales que extienden el área de superficie y permiten al chapulín “escondarse” mejor y evitar el estrés que provoca la sobrepoblación de chapulines.

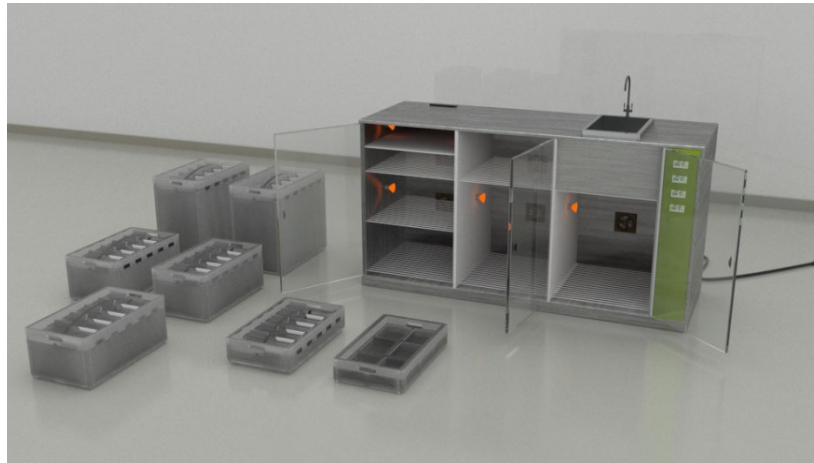


Fig. 1. Imagen frontal de los elementos pertenecientes al sistema ensamble de cultivo de chapulines

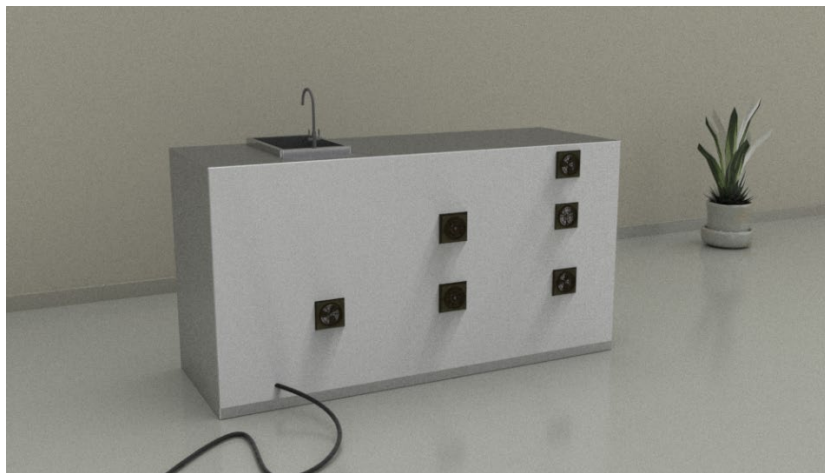


Fig. 2. Imagen de la vista posterior del ensamble de cultivo de chapulines con paredes divisorias

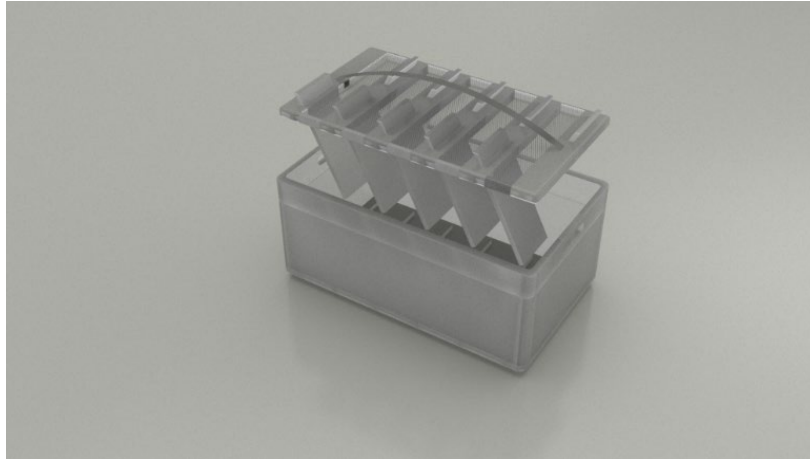


Fig. 3. Caja de cultivo de chapulines

CONCLUSIONES:

1. El consumo de insectos como una alternativa dentro de la dieta humana, particularmente del Chapulín, resulta sumamente valioso desde la perspectiva nutricional, como en el aspecto social y económico para generación de ingresos a pequeños productores. Además, existe también un menor impacto negativo al ambiente en comparación a otras fuentes de producción de alimentos de alta carga proteica, como la ganadería.
2. La producción a pequeña escala de insectos comestibles como los chapulines, en sistemas como el que se plantea en este trabajo, puede ser de utilidad para un control de la crianza del chapulín no dependiente de los cultivos y por tanto, sin afectar a éstos como plaga, y puede generar ingresos adicionales a agricultores o a población de áreas rurales o suburbanas para el abasto de mercados y restaurantes
3. El diseño del presente sistema para el cultivo de insectos facilitará la adopción de nuevas alternativas alimentarias dentro de las nuevas generaciones al brindarles un objeto especializado
4. La producción a baja escala de alimentos y la producción para consumo directo permite tener un mayor grado de inocuidad en el proceso y producto final.

BIBLIOGRAFÍA:

Aquino-Olmedo, S.T. 2015. Efecto de la temperatura y humedad en el ciclo biológico del chapulín *Sphenarium purpurascens* Charpentier. Tesis de Maestría en Ciencias de Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca, IPN. 80 p.

Guzmán, F. 2018. Recurso alimentario, fuente de proteína sana. El chapulín de milpa, mejor que la carne. *Gaceta UNAM*, Núm. 5007, pp. 4-5. Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado de la web: <https://www.gaceta.unam.mx/el-chapulín-de-milpa-mejor-que-la-carne/>. Consulta: 30092022.

SENASICA-DGSV. 2020. Chapulines de Importancia Económica en México en cultivo de frijol: *Brachystola magna*, *Brachystola mexicana*, *Melanoplus differentialis*, *Sphenarium*

purpurascens, Taeniopoda eques y Boopedon diabolicum (Orthoptera: Romaleidae; Acrididae; Pyrgomorphidae). Sader-Senasica. Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. Ficha técnica. Tecámac, Estado de México, 36 p.

Hernández-Ramírez, J. C., Avendaño-Rodríguez, G. B., Enríquez-Almaraz, T., Jarquín-Olivera, C. M. 2020. Acceso económico al insecto comestible *Sphenarium*

Purpurascens en la Sierra Sur de Oaxaca, México. Revista Española de Nutrición Comunitaria, 26 (1): 44-49.

Ibarra-Herrera, C. C., Acosta-Estrada, B., Chuck-Hernández, C., Serrano-Sandoval, S. N., Guardado-Félix, D. and Pérez-Carrillo, Esther. 2020. Nutritional content of edible grasshopper (*Sphenarium purpurascens*) fed on alfalfa (*Medicago sativa*) and maize (*Zea mays*). CyTA-Journal of Food, 18 (1): 257–263.

Melo, V., Calvo, C., Saltijeral, J., Macín, S., y Quirino, T. Mexican traditional cuisine world heritage. In: Rodrigues, S. Marques H.Á., Franchini, B., Dias, D. Culinary Arts and Sciences. Global, local and nacional perspectives. Associação Portuguesa dos Nutricionistas. Porto, Portugal, 2013. pp. 130-135. ISBN: 978-989-8631-08-4.

Melo-Ruiz, V., Quirino-Barreda, T., García-Núñez, M., Díaz-García, R., Sánchez-Herrera, K. & Schettino-Bermúdez, B. (2015). Grasshoppers *Sphenarium Purpurascens* Ch source of proteins and essential amino acids. Journal of Chemistry and Chemical Engineering, 9 (7):472-476.

Melo-Ruiz, V., Quirino-Barreda, T., Díaz-García, R., Falcón-Gerónimo, J.J. & Gazga-Urioste, C. Insects as Food from Deserted Areas in Mexico. Chapter 3, In: Recent Advances in Biological Research, Vol. 5. Yanik T. (Editor). Book Publisher International. Ataturk, Turkey. 2019; pp. 24-32.

SENASICA-DGSV. 2020. Chapulines de Importancia Económica en México en cultivo de frijol: *Brachystola magna*, *Brachystola mexicana*, *Melanoplus differentialis*, *Sphenarium purpurascens*, *Taeniopoda eques* y *Boopedon diabolicum* (Orthoptera: Romaleidae; Acrididae; Pyrgomorphidae). Sader-Senasica. Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. Ficha técnica. Tecámac, Estado de México, 36 p.