

## Uso de extractos de *Jatropha dioica* en el desarrollo de un tamarindo nutracéutico antioxidante

F. Aldape-Briones<sup>1</sup>, D. Jáuregui-Vázquez<sup>2</sup>, F. N. de la Cruz-Durán<sup>3</sup>, E. Díaz-Cervantes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de alimentos, Centro Interdisciplinario de Noreste (CINUG), Universidad de Guanajuato, Guanajuato, México. <sup>2</sup>Departamento de Electrónica, División de Ingenierías Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Salamanca, México. <sup>3</sup>Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Saltillo, México. [e.diaz@ugto.mx](mailto:e.diaz@ugto.mx)

**RESUMEN:** El ácido elálgico es una molécula con diversas propiedades medicinales, destacando sus efectos antibióticos y además de presentar aplicaciones para la industria alimentaria. La *Jathopha dioica* mejor conocida como sangregado es una planta utilizada tradicionalmente contra la caída del cabello, auxiliar en hematomas, heridas e infecciones cutáneas, siendo la raíz la parte más utilizada de la planta. Por otra parte, un nutracéutico es un producto de origen natural con propiedades benéficas para la salud y con una capacidad preventiva y/o terapéutica definida. Por ello se elaboró un producto nutracéutico, empleando como vehículo una pulpa de tamarindo con una dosis mínima de 1ml de extracto por cada 100g de producto. Asimismo, se realizó un estudio de la presencia del ácido elálgico en *Jathopha dioica* a través de extractos hidroalcohólicos, además de corroborar la existencia de ácido elálgico, con ayuda de diferentes softwares y a partir de metodologías basadas en espectroscopía molecular y química teórica y computacional; llevando a cabo acoplamientos moleculares *in silico* entre la proteína CK2 $\alpha$  y una serie de moléculas activas presentes en el sangregado. De esto último, pudimos obtener que la molécula 1, presente en la planta estudiada, obtuvo una LE de -5.46 kcal/mol, mientras que la LE del ácido elálgico fue de -4.02 kcal/mol.

**Palabras clave:** Antioxidante, *Jatropha dioica*, nutracéutico.

**ABSTRACT:** Ellagic acid is a molecule with diverse medicinal properties, highlighting its antibiotic effects and also presenting applications for the food industry. However, *Jathopha dioica* better known as “sangregado” is a plant traditionally used against the hair loss, aid in bruises, wounds and skin infections, being their roots the most used part of the plant. On the other hand, a nutraceutical is a product of natural origins with beneficial properties for health and with a defined preventive and / or therapeutic capacity. In the present work, a nutraceutical product was elaborated, using as the vehicle a tamarind pulp with a minimum dose of 1ml of extract per 100g of product. Likewise, a study of the presence of ellagic acid in *Jathopha dioica* was carried out through hydroalcoholic extracts, besides corroborating the existence of ellagic acid, with the help of different softwares and based on methodologies based on the molecular spectroscopy and the theoretical and computational chemistry. In order to the above information, have been carry out an *in silico* molecular couplings between the protein CK2 $\alpha$  and some active molecules present in sangregado. The las, to visualize the interactions that exist between the ligands and the protein, obtaining the best LE for the so-called molecule 1, present in the studied plant, with a value of -5.46 kcal/mol, considering that the ellagic acid presents a LE of -4.02 kcal/mol.

**Keywords:** Antioxidant, *Jatropha dioica*, nutraceutical.

**Área:** Nutrición y nutracéuticos

### INTRODUCCIÓN

En la actualidad se busca obtener y caracterizar los principales compuestos fitoquímicos encontrados en plantas de la zona árida del noreste del estado de país, lo anterior con la finalidad de obtener nuevos agentes bioactivos. Los terpenos son el grupo más grande de fitoquímicos, los cuales exhiben diversas interacciones antagónicas y beneficiosas en el área de la salud. (Devappa *et al.*, 2011).

Considerando lo anterior, cabe destacar que el estado del arte enuncia que los fitoquímicos comúnmente son metabolitos secundarios de las plantas, los cuales son biosintetizados para ser empleados en diversas funciones de las plantas, como por ejemplo como mecanismos de defensa ante artrópodos, insectos y microorganismo o simplemente para contribuir con una funcionalidad específica (otorgar

olor o sabor). De igual manera, el proceso de extracción de metabolitos secundarios a partir de extractos de plantas es variable, pudiendo obtenerse como extractos acuosos o polvos, a través de diferentes solventes (Martínez, 2013).

A su vez, una de las plantas más empleadas en medicina tradicional del noreste del estado de Guanajuato es *Jatropha dioica*, también denominada sangregado, sangre de drago o sangredrigo; siendo esta última una fuente potencial de nuevos agentes antimicrobianos y antioxidantes, gracias al uso tradicional que se le da en la actualidad (Wong-Paz *et al.*, 2010). En la literatura, se enuncia que se han cuantificado compuestos fenólicos y terpenoides presentes en *Jatropha dioica*, por lo que se podría considerar como una fuente alternativa de fitoquímicos con actividades anti arteroscleróticas y anti cancerígena, incluso pueden funcionar como agentes que coadyuvan en el control del estrés oxidativo, , además de poder ser utilizado en la industria alimentaria como posible agente antioxidante (Ramírez Moreno, Serrano Gallardo, & Barragán Ledezma, 2016).

Por otro lado, algunos usos tradicionales del sangregado son: evitar la caída de cabello, combatir la sarna, aliviar hematomas, heridas y pápulas (Wong-Paz *et al.*, 2010), tratar hemorroides, úlcera péptica, gastritis, asma, acné, sangrado de encías, odontalgia, entre otras (Martínez *et al.*, 2014).

Además, adentrándonos en el área de los nutraceuticos, se puede decir que estos son productos de origen natural con propiedades beneficiosas para la salud (De Valle, 2018). Este tipo de alimentos deben cumplir con los siguientes requisitos: Ser productos de origen natural, aislados y purificados, no desnaturalizados; deben aportar efectos benéficos para la salud: mejora de una o más funciones fisiológicas, acción preventiva y/o curativa, y mejora de la calidad de vida; deben cubrir ciertos análisis químicos, de estabilidad y toxicológicos; sus propiedades bioactivas deben ser reproducibles; sus procesos de validación deben seguir criterios equiparables a cualquier otro medicamento (criterios FDA) aportando reproducibilidad, calidad, seguridad y eficacia.

En el presente trabajo, se caracterizaron las interacciones entre algunos fitoquímicos de *Jatropha dioica* y una cinasa involucrada en procesos de estrés oxidativo, CK2 $\alpha$ , para de esta manera evaluar la actividad intrínseca antioxidante de las moléculas activas del sangregado y de esta manera soportar la hipótesis de la utilidad como antioxidante de los extractos naturales de dicha planta. De igual manera, se desarrolló un producto nutraceutico a base de pulpa de tamarindo y obteniendo las propiedades espectroscópicas de los extractos que se generaron.

### MATERIALES Y MÉTODOS

*In silico*: Se utilizó la proteína CK2 $\alpha$ , presente en diversos tipos de cáncer e implicada en estrés oxidativo (Srivastava *et al.*, 2018), la cual se seleccionó como blanco biológico; además se seleccionaron las moléculas activas de *Jatropha dioica* como ligandos (Devappa, Makkar & Becker en 2011). Los ligandos fueron modelados y optimizados a través del paquete computacional Spartan '08 V1.2.0, posteriormente se llevó a cabo la asignación de cargas con ayuda del programa de Chimera (UCSF, 2004). Las interacciones entre el blanco biológico y los ligandos seleccionados se llevaron a cabo con el software (MVD) Molegro Virtual Docker.

Extractos: se realizó la recolección de *Jatropha dioica*, posteriormente se lavó y cortó en pequeños trozos. Lo siguiente fue, preparar diferentes extractos, empleando 10g de muestra con 80mL de disolvente (etanol y agua en diferentes porciones) dentro de tubos falcón.

Después, se colocarán los tubos falcón dentro de una gradilla para dejarlos macerar en condiciones libres de luz, durante 3 semanas. Posteriormente de transcurrir este tiempo se realizarán diferentes diluciones a distintas concentraciones, para calcular los espectros y así corroborar la existencia de las moléculas activas.

*Desarrollo del nutracéutico:* Para la elaboración del tamarindo se realizó un pelado, una cocción y un despulpado, para posteriormente formular las tres distintas formulaciones las cuales se distinguieron por el tipo de chile en polvo a emplear, la primera formulación se realizó con chile dulce, la segunda con chile chamoy y la tercera con chile agridulce.

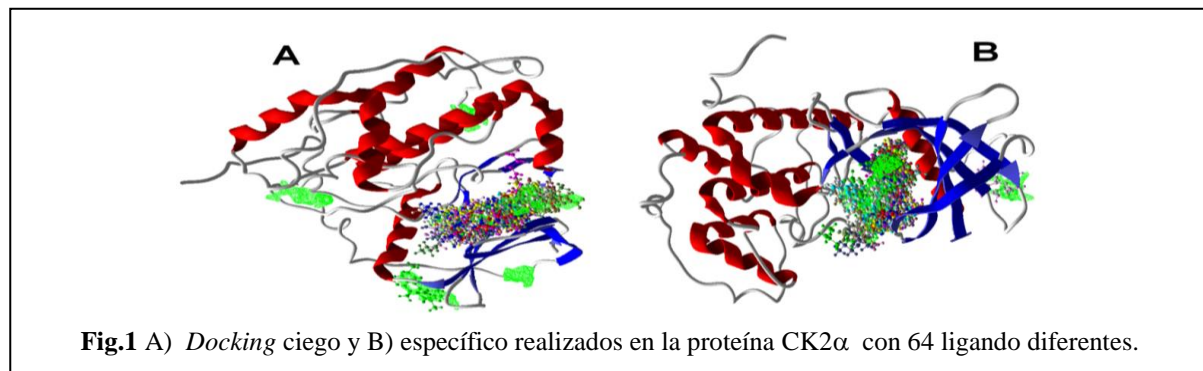
### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Interacciones de ligandos de sangregado con ck2 $\alpha$

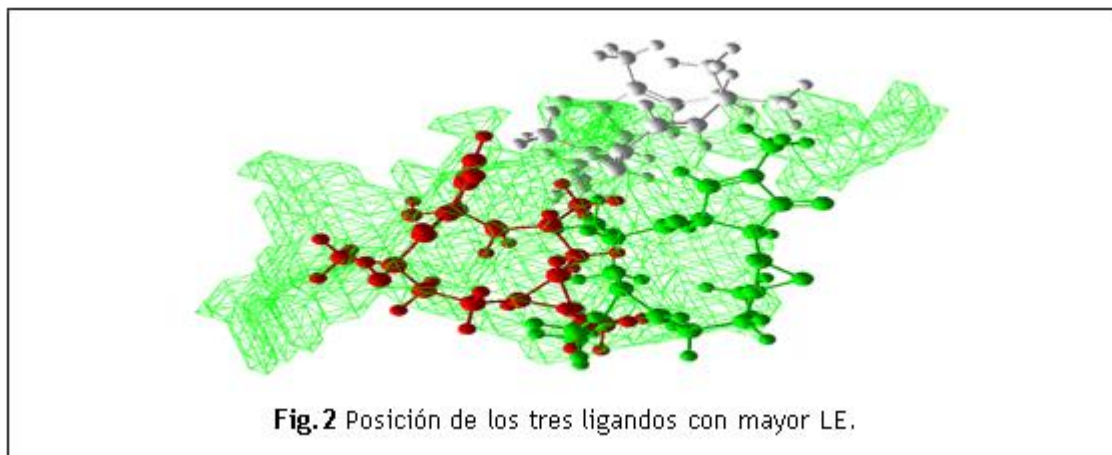
Con base a la metodología planteada se trabajó con 64 moléculas activas de *Jatropha dioica*, las cuales denominamos ligandos y también se trabajó con una proteína presentes en cáncer, CK2 $\alpha$  (PDB 2ZJW), seleccionada como blanco biológico.

Para comenzar el presente trabajo, primero se realizó un *docking* ciego. en toda la superficie de uno de los blancos biológicos seleccionados (CK2 $\alpha$ ) el cual se puede observar en la **Fig.1A**. En dicha primera aproximación, se observa el acomodo de los ligandos dentro de dos de las cavidades del blanco biológico, en este caso 63 ligandos quedaron dentro de la cavidad 1, la cual es la más grande (cuenta con un volumen de 255.49 Å<sup>3</sup>) y en la cavidad 2 (volumen de 39.42 Å<sup>3</sup>) solo ingreso un solo ligando.

A continuación, se realizó un *docking* específico, el cual se llevó a cabo en las cavidades que fueron ocupadas por los ligandos, ver **Fig.1B**. Las moléculas obtienen una pose específica, con las cuales pudimos obtener y comparar las energías y eficiencia de ligando (LE, por su acrónimo en inglés) de cada una de las 64 moléculas, cabe destacar que el L.E. es la energía de acoplamiento blanco-ligando, por átomo pesado (no hidrógenos).



En la **Fig.2** se muestra la cavidad 1 con los tres mejores ligandos que son para fines prácticos fueron denominados ligando1, ligando 12 y ligando 48. En dicha figura, podemos ver que ocupan específicamente la parte central de la cavidad, además de que el ligando 1 (color blanco) es la molécula más pequeña pero también la que se encuentra más afuera del volumen de la cavidad, mientras que los otros dos ligandos, se posicionan de manera más interna.

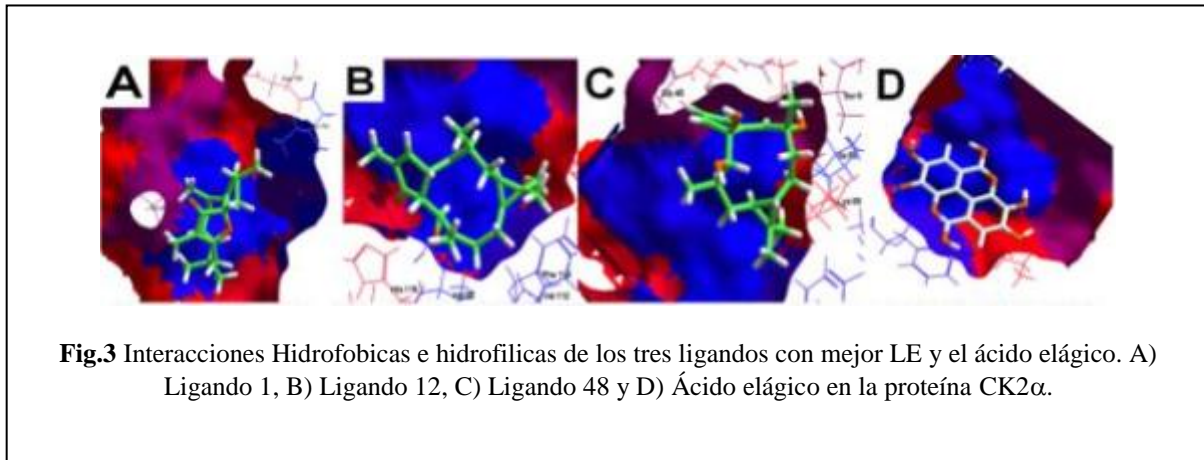


En la **tabla I** se muestran las principales energías de interacción, obtenidas de los tres mejores ligandos y el ácido elágico con la proteína CK2 $\alpha$ . Se obtuvo un LE de -4.02 kcal/mol para el ácido elágico, no siendo uno de los mejores ligandos, debido a que el ligando 1 presentó mejor interacción, LE de -5.46 kcal/mol, seguido del ligando 48 con un LE de -5.38 kcal/mol.

<b>Tabla I.</b> Principales energías de interacción blanco-ligando					
Ligando	Energía total	HBond	Electro	LE1	VdW (LJ12-6)
<b>Ejemplo 1</b>	<b>-125.638</b>	<b>-2.336</b>	<b>0.539</b>	<b>-5.463</b>	<b>-17.953</b>
Ejemplo 12	-123.865	-2.500	-6.343	-5.385	-31.239
Ejemplo 48	-123.938	-5.065	-5.512	-5.389	-34.339
Ácido elágico	-88.599	-7.759	-2.605	-4.027	-41.885

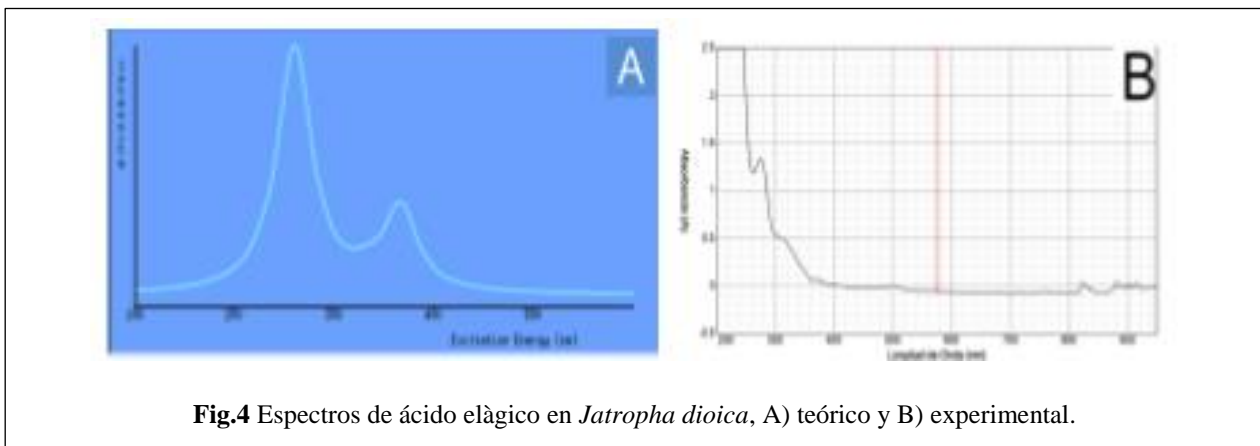
Para complementa el presente trabajo, se obtuvieron interacciones hidrofóbicas, en las cuales los colores representan zonas hidrofóbicas en color azul y zonas hidrofílicas en color rojo, también pueden presentarse zonas con hidrofobicidad intermedia en color violeta. Además, se observa en la **Fig.3** que las estructuras de los ligandos también se colorean dependiendo de su hidrofobicidad, en donde el color verde indica que tiene fragmentos hidrofóbicos, el color naranja fragmentos hidrofílicos y el blanco es intermedio entre ambos.

En la **Fig.3A** se muestra que la cavidad donde se acopla el ligando 1 es en su mayoría hidrofóbica, presentado coloración azul y solo una pequeña fracción presenta color rojo, considerando también que



la estructura de la molécula es hidrofóbica (verde). Sucede un caso similar para la cavidad donde se acopla el ligando 12, presentando mayor hidrofobicidad en su mayoría, ver **Fig.3B**, y la estructura del ligando es de color verde. El ligando 48 al igual que los otros dos ligandos es de color verde y se encuentra sobre una superficie hidrofóbica, ver **Fig.3C**. En el caso del ácido elálgico (**Fig.3D**) su estructura es neutra (color blanco), pero sus fragmentos laterales hidrofílicos (color naranja), pero la superficie donde se acopla es, en su mayoría, hidrofóbica, por lo tanto, esto nos ayuda a entender su baja LE, debido a las interacciones hidrofóbicas de la superficie, con la estructura “neutra” del ácido elálgico.

Además se obtuvieron los espectros de absorción UV/Vis a partir de los extractos realizados a *Jathopha dioica*. La **Fig.4A** muestra el espectro teórico del ácido elálgico, calculado a partir del formalismo de la DFT, presentando un pico de absorción aproximadamente a 280nm y otro alrededor de 380nm. A su vez, la **Fig.4B** muestra el espectro experimental, observándose la existencia de un pico de mayor absorbancia similar al del espectro teórico (280nm), y uno de menor absorbancia alrededor de 340nm, destacando que el espectro experimental fue obtenido a partir del extracto crudo de sangregado, generándose más picos de absorbancia debido a la presencia de otros compuestos, aparte del ácido elálgico, pero a pesar de ello, con la presencia de los picos mencionados previamente se corroboró la existencia del ácido elálgico en *Jathopha dioica*, pudiendo utilizar una metodología teórico-experimental.



Para finalizar este trabajo se elaboró el nutracéutico, seleccionando como vehículo una pulpa de tamarindo con diferentes tipos de chile en polvo. De lo anterior, se obtuvieron tres formulaciones: la primera (chile dulce) tuvo un sabor más natural y cercano al tamarindo, la 2da formulación (chile chamoy) presentó un sabor más dulce y la 3er formulación generó una sensación más amarga, pero con una sensación agradable, en cuestión de textura las tres formulaciones fueron similares.

### BIBLIOGRAFIA

- Devappa, R. K., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2011). Jatropha Diterpenes: a Review. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 88, 301-322
- Del Valle Prieto, M. B. (2018). Desarrollo de un nutracéutico de aceite de oliva virge extra enriquecido en luteína y zeaxantina. Validación “in vitro e in vivo” de sus propiedades bioactivas. Universidad de Extremadura.
- Martínez García, N. (2013). “Evaluación del efecto quimioprotector de la decocción de la raíz de *Jatropha dioica* en ratones albinos suizos cepa ICR mediante Ensayo cometa in vivo”. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo Instituto de Ciencias de la Salud.
- Martínez, N.A., Vázquez Alvarado, G., Fuigeroa, P., Zuñiga, A., Hernández Ceruelos, C. (2014). Análisis fitoquímico de *Jatropha dioica* y determinación de su efecto antioxidante y quimioprotector sobre el potencial genotóxico de ciclofosfamida, daunorrubicina y metilmetanosulfonato evaluado mediante el ensayo cometa. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, vol. 13, núm. 5, pp. 437-457.
- Ramírez Moreno, A., Serrano Gallardo, L. B., & Barragán Ledezma, L. (2016). Determinación de los compuestos polifenólicos en extractos de *Jatropha dioica* y su. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, vol. 47, núm. 4, pp 42-48.
- Srivastava, A., Hirota, T., Irlé, S., & Tama, F. (2018). Conformational dynamics of human protein kinase CK2 $\alpha$  and its effect on function and inhibition. *Proteins*, 86, 344-353.
- Wong-Paz, J. E., Castillo-Inungaray, M. L., López-López, L. I., Contreras-Esquivel, J. C., Nevárez-Moorillon, G. V., & Aguilar, C. N. (2010). *Jatropha dioica*: FUENTE POTENCIAL DE AGENTES ANTIMICROBIANOS. *AQM*, 2, 1-5.
- Yang, J., & Chen, C. (2004). *Proteins*, 55, 288-304