

## Taraxasterol presente en hojas de *Jatropha gaumeri* Greenm, como teórico antagonista parcial del receptor muscarínico ACh-M<sub>3r</sub> del tracto gastrointestinal

Luis D Cu-Quiñones<sup>a</sup>, Manuel J Chan-Bacab<sup>b</sup>, Carlos Granados-Echagoyen<sup>b</sup>, Benjamin O. Ortega-Morales<sup>b</sup>, Pedro Zamora-Crescencio<sup>c</sup>, Emanuel Hernández-Núñez<sup>d</sup>, Diana Lizbeth Gomez-Galicia<sup>e</sup>, Francisco J. Aguirre-Crespo<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, <sup>b</sup> DEMAB, <sup>c</sup> CIHyS, Universidad Autónoma de Campeche, Av. Agustín Melgar S/N entre Calle 20 y Juan de la Barrera, Col. Buenavista, CP 24039, San Francisco de Campeche, Campeche, México.

<sup>d</sup> Dpto. Recursos de Mar, CINVESTAV-Mérida. Mérida Yucatán, México.

<sup>e</sup> Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, CP 62209, Cuernavaca, Morelos, México.

\*[fjaguirr@uacam.mx](mailto:fjaguirr@uacam.mx)

Recibido: 01 Junio 2021, Aceptado: 31 Junio 2021.

### Resumen

*Jatropha gaumeri* es un árbol endémico de la Península de Yucatán, México, y cuenta con estudios etnomédicos, fitoquímicos y farmacológicos. En el presente trabajo se plantea generar información teórica que relacione las propiedades fisicoquímicas y biológicas con los efectos atribuidos en la medicina tradicional y certidumbre en el desarrollo de estudios experimentales. *J. gaumeri* se analizó por gravimetría y espectroscopia (UV-Vis, FTIR) y taraxasterol (**6**) mediante Molinspiration, Osiris y AutoDock Vina para el acoplamiento con el receptor muscarínico tipo 3 (Acho-M<sub>3r</sub>). Se registra un rendimiento del 14.66±0.75%, por UV-Vis se identifican bandas relacionadas a compuestos fenólicos y flavonoides; por FTIR se identifican bandas relacionadas con **6**. Por otro lado, **6** presenta una violación a la Regla de Lipinski, interacción con receptores nucleares, enzimas y con receptores acoplados a proteínas G, no se reportan riesgos de mutagenicidad, tumorigenicidad, irritabilidad y sobre reproducción. **6** presenta alta probabilidad de absorción en tracto gastrointestinal (TGI), inhibición de OATP1B1, BSEP y hERG, sustrato del CYP3A4 así como de receptores a estrógenos. El sitio activo del ACh-M<sub>3r</sub> se optimizó con escopolamina (RMSD: 2.48 Å) y **6** registro una alta afinidad con el ACh-M<sub>3r</sub>, pero menor a la de escopolamina (-10.18 vs. -5.9 Kcal/mol); los valores de *K<sub>i</sub>* (0.03 vs. 0.48 μM) presentan el mismo comportamiento, hechos que sugieren interacción parcial mediante fuerzas de Van der Waals. Bajo este contexto, **6** presenta buena absorción, baja permeabilidad, potencial acumulación en la superficie apical del enterocito, interacción con los ACh-M<sub>3r</sub> favoreciendo la inducción de efectos a nivel del TGI, modificación de la biodisponibilidad y la farmacocinética de fármacos empleados de manera simultánea con las preparaciones tradicionales de *J. gaumeri*, entre otras especies vegetales medicinales. Se requieren evaluaciones experimentales (*in vitro*, *ex vivo*, *in vivo*) que corroboren el planteamiento.

**Palabras clave:** *Jatropha gaumeri*, FTIR, Bioinformática, Taraxasterol, ACh-M<sub>3r</sub>.

### 1. Introducción

La OMS sostiene que la medicina tradicional podría emplearse como alternativa de primera línea en el tratamiento de resfriados, diarreas, dolor de estómago, fiebres ligeras (OMS, 2006). En la Península de Yucatán, una de las especies vegetales con reconocido prestigio en la medicina tradicional regional es *Jatropha gaumeri* Greenm (Euphorbiaceae), árbol conocido en lengua maya como *pomol ché* (De Stefano & Fernández-Concha, 2020). Se encuentra distribuido en los municipios de Campeche (Baez *et al.*, 2016), Tenabo (Crescencio, 2003), Calkini (Gutiérrez *et al.*, 2016) y Calakmul (Gallegos *et al.*, 2002), del estado de Campeche, México. Cabe destacar que diferentes partes de *J. gaumeri* se han empleado por sus propiedades medicinales.

En este contexto, se ha reportado que la resina se emplea empíricamente para el alivio de las erupciones cutáneas y ampollas desarrolladas en la mucosa de la boca; de igual forma, se reporta su empleo en el tratamiento de la fiebre y en las fracturas óseas. De manera particular, preparaciones tradicionales a base de hojas de *J. gaumeri* se emplean mediante la elaboración de infusiones para el tratamiento de úlceras, heridas y diarrea. Por otro lado, se reporta que las semillas son empleadas como laxantes (Can-Aké *et al.*, 2004; Méndez González, Dorantes Euan, Pacheco Garrido, & Durán García, 2016). Desde un punto de vista fitoquímico, se han realizado diversos estudios a especies pertenecientes al género *Jatropha* permitiendo la identificación y el aislamiento de metabolitos secundarios; desde una perspectiva cualitativa se han identificado alcaloides, diterpenos, triterpenos, lignanos, así como péptidos cíclicos (Sabandar *et al.*, 2013). Por otro lado, a partir de estudios



fitoquímicos realizados a los extractos metanólicos derivados de las raíces de *J. gaueri* se han aislado e identificado metabolitos como la 2-*epi*-jatrogrosidiona (1) y 15-*epi*-4*E*-jatrogrosidentadiona (2); el análisis de los extractos metanólicos de las hojas ha permitido el aislamiento e identificación de metabolitos como el  $\beta$ -sitosterol (3),  $\alpha$ -amirina (4),  $\beta$ -amirina (5), taraxasterol (6), (Can-Aké *et al.*, 2004), ácido gálico (7) y quercetina (8) (Aguirre-Crespo *et al.*, 2021). Metabolitos secundarios a los cuales se les han realizado numerosos estudios farmacológicos que permiten identificarlos como entidades químicas con actividad biológica y con potenciales aplicaciones farmacológicas en las enfermedades humanas.

A pesar de los amplios trabajos experimentales realizados a las raíces y hojas de *J. gaueri*, se requieren de estudios que permitan optimizar la fitoquímica y la farmacología experimental aplicada a los extractos de *J. gaueri* y refuercen un empleo terapéutico seguro y eficaz. Cabe destacar que las plantas medicinales y sus componentes químicos actúan sobre mecanismos fisiológicos o patológicos presentes en un organismo y ejercen el efecto terapéutico deseado; sin embargo, podrían interactuar con alimentos, fármacos (Soria 2018), macromoléculas presentes en el tejido del músculo liso gastrointestinal y modificar la farmacocinética de fármacos empleados en la medicina alopática o favorecer la aparición de reacciones adversas. Bajo este contexto, el presente trabajo plantea generar información teórica que relacione las propiedades fisicoquímicas y biológicas con los efectos atribuidos en la medicina tradicional y certidumbre en el desarrollo de estudios experimentales.

## 2. Parte experimental

Hojas de un individuo de *J. gaueri* fueron colectadas en las inmediaciones de la ciudad de San Francisco de Campeche, Campeche, México y depositadas e identificadas en el Herbario CIHyS-UACAM (V: 18927). El material vegetal se secó a temperatura ambiente a la sombra y posteriormente se molió con un molino manual. Finalmente, se resguardó bajo las recomendaciones descritas en la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos [Secretaría de salud, 2001].

Los extractos acuosos fueron obtenidos vía maceración (1g:28mL. m/Vol; 24 h; 25 °C); se filtraron, secaron y almacenaron en refrigeración (5 °C). El rendimiento se determinó mediante un método gravimétrico y el extracto acuoso se examinó por espectroscopía ultravioleta visible [Jain *et al.*, 2016] y espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) [Aguirre *et al.*, 2021].

Se emplearon las plataformas Osiris y Molinspiration (Nadeem *et al.*, 2016) para el análisis *in silico* de los metabolitos secundarios reportados en *J. gaueri*. Adicionalmente, se utilizó la plataforma admetSAR para la valoración de la potencial actividad biológica (Cheng *et al.*, 2012). Finalmente, se empleo Autodock Vina para el desarrollo de los análisis de acoplamiento molecular (Cob-Calan, 2019).

## 3. Resultados y discusión

El extracto acuoso obtenido por maceración de hojas de *J. gaueri* registra un rendimiento de extracción del  $14.66 \pm 0.75\%$ . La Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM) describe en la sección de métodos generales de análisis a la extracción vía maceración en frío (Secretaría de Salud, 2008), por lo que se le considera como un método de extracción oficial. Sin embargo, es importante considerar variaciones en el rendimiento como en el contenido a partir de las condiciones de temperatura, tiempo, masa, volumen y tipo de disolvente empleado. Mas aun cuando en los diversos modelos médicos tradicionales, así como en los estudios farmacognósticos se emplean diversas metodologías y condiciones de extracción (Azmir *et al.*, 2013; Azwanida, 2015).

La presencia y cantidad de metabolitos secundarios en una muestra se pueden determinar mediante el empleo de la espectroscopía UV-visible (Altemimi *et al.*, 2017); una ventaja significativa radica en la detección individual a partir de bandas de absorción (transferencias de electrones) sin la superposición de otras bandas vibratorias vecinas (Hunger & Weitkamp, 2001). En este sentido, el macerado acuoso de las hojas de *J. gaueri* (Figura 1) presenta mayor absorción en bandas localizadas entre 220 a 260 y 360 a 440 nm, respectivamente.

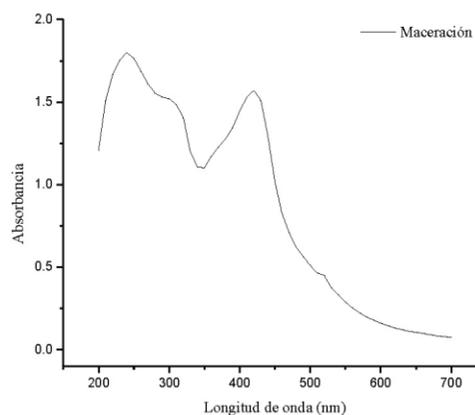
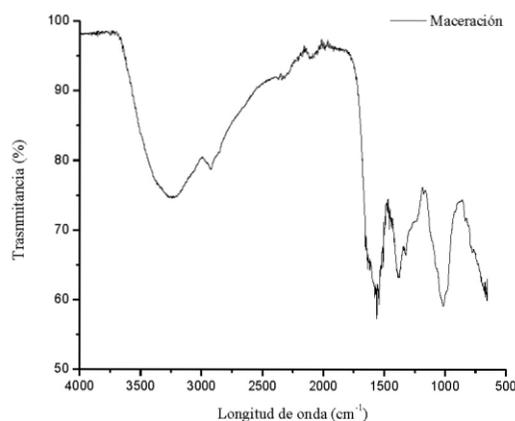


Figura 1. Espectro UV-Vis del macerado acuoso de hojas de *J. gaueri*. Los resultados son expresados como el promedio de nueve experimentos.

Las bandas de absorción entre 220-260 y 360-440 nm se relacionan con la presencia de metabolitos secundarios de tipo fenólicos y/o flavonoides (Cuesta Rubio, Márquez Hernández, & Campo Fernández, 2015); es importante considerar que metabolitos secundarios con dobles enlaces, carbonos carbonílicos (aldehídos, cetonas, ácidos y sus derivados), heteroátomos, compuestos insaturados conjugados (dienos, polienos, enonas, dienonas), compuestos aromáticos mono o bi-sustituídos, hidrocarburos aromáticos policondensados absorben en el rango de 300 a 500 nm (Cassiera-Posada,

Avila-León, & Riascos Ortiz, 2012).

El espectro FTIR del macerado acuoso de *J. gaueri* describe bandas en la región de grupos funcionales, sobretonos y/o superposiciones relacionadas con la presencia de grupos funcionales de entidades químicas presentes en el extracto (**Figura 2**). En la banda entre 3500-3300 cm<sup>-1</sup> se relaciona con estrechamientos de enlaces de tipo alcohol (R-OH). La banda entre 2950-2850 cm<sup>-1</sup> corresponden a vibraciones del enlace C-H presente en metilos (R-CH<sub>3</sub>) y metilenos (R-CH<sub>2</sub>) y las cuales se corroboran con las bandas entre 1470-1350 cm<sup>-1</sup>. La banda en entre 1700-1600 cm<sup>-1</sup> es atribuible al estiramiento del doble enlace C=O; la doble banda en 1300-1050 cm<sup>-1</sup> se relaciona con la presencia de R-CO-R'.



**Figura 2.** Espectro FTIR del macerado acuoso de hojas de *J. gaueri*. (masa sólida seca, KBr 5%).

Bajo este contexto, el macerado acuoso de *J. gaueri* presenta metabolitos secundarios con grupos alcohol, aminas primarias (R-NH<sub>2</sub>), secundarias (R-NH-R), pirroles o indoles (Derenne, Van Hemelryck, Lamoral-Théys, Kiss & Goormaghtigh, 2013), compuestos alifáticos (Anza, Gelaw & Annisa, 2015), ácidos carboxílicos (R-COOH), ésteres (R-COO-R), aldehídos (R-COH), cetonas (R-CO-R), ésteres (Abreu *et al.*, 2013), entre otros grupos funcionales. Por otro lado, las bandas a 3337, 2969, 2930, 2865, 1679, 1460, 1387, 1159, 1049, 970, 870 cm<sup>-1</sup> sugieren la presencia de **6** (Duarte, 2008; Rufai *et al.*, 2019) en el extracto de *J. gaueri*.

El análisis en Molinspiration permite estimar que **6** es un triterpeno pentacíclico (PM= 426.73 g/mol) con baja superficie polar (TPSA: 20.23), coeficiente de partición alto (CLogP: 8.1), un grupo donador (nOH) y aceptor (nOHNH) de hidrógeno, y en general presenta una violación a la Regla de Lipinski, la cual establece que moléculas con una o más violaciones presentan problemas con el transporte pasivo a través de las membranas biológicas y con la biodisponibilidad (Lipinski, Lombardo, Dominy, & Feeney, 1997). Valores

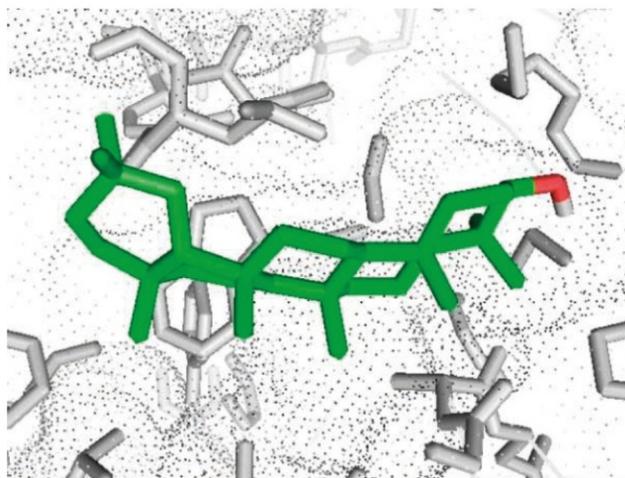
altos de LogP indican una alta liposolubilidad y baja difusión; la biodisponibilidad de **6** puede estar relacionada con otros mecanismos de transporte como la difusión por canales, transporte con gasto de energía, endocitosis y/o pinocitosis (Herrera Ruiz *et al.*, 2012). Por otro lado, **6** presenta una alta puntuación como ligando de receptores nucleares (NR: 0.66), inhibidor enzimático (EI: 0.5) y agonista de receptores acoplados a proteínas G (GPCR: 0.17). Los NR son importantes objetivos farmacéuticos al desempeñarse como reguladores clave de muchas enfermedades metabólicas e inflamatorias, incluyendo diabetes, dislipidemia, cirrosis, fibrosis (Yang, 2014), entre otros padecimientos. Los EI (Steffansen *et al.*, 2004) y los GPCR (Caulfield *et al.*, 1993) son ampliamente reconocidos como blancos terapéuticos. El análisis por la plataforma Osiris indica que **6** no supone un riesgo de toxicidad en el contexto de mutagenicidad, tumorigenicidad, irritabilidad y reproducción.

La predicción de propiedades ADME mediante admetSAR, registró que **6** presenta los valores más altos de probabilidad (*p*) en la absorción: tracto gastrointestinal (*p*=0.9919), células CaCo2 (*p*=0.5) y biodisponibilidad oral (*p*=0.5143); distribución: **6** se localiza en lisosomas (*p*=0.4786) y logra el paso de la barrera hematoencefálica (*p*=0.8509); metabolismo: **6** se identifica como inhibidor de OATP1B1 (*p*=0.9018) y de BSEP (*p*=0.749), sustrato de CYP3A4 (*p*=0.6851), inhibición hERG (*p*=0.6685), entre otros blancos como receptores a estrógenos (*p*=0.7997), andrógenos (*p*=0.7445), tiroideo (*p*=0.6512), glucocorticoides (*p*=0.834), aromatasas (*p*=0.755), PPARgamma (*p*=0.5551). En este contexto, **6** podría acumularse en enterocito, ejercer acciones en el tracto gastrointestinal y modificar la biodisponibilidad y la farmacocinética de fármacos empleados de manera simultánea con las preparaciones tradicionales a base de hojas de *J. gaueri*, entre otras especies vegetales medicinales.

Con respecto a los NR, los GPCR ejercen respuestas rápidas (milisegundo, ms; Flores-Soto, *et al.*, 2005) para el control del músculo liso gastrointestinal, ejemplo de ello es el receptor muscarínico tipo 3 (Acho-M<sub>3r</sub>). Con la finalidad de identificar potenciales interacciones, se llevó a cabo la simulación de acoplamiento molecular entre **6** y el Acho-M<sub>3r</sub> (**Figura 3**).

Mediante el empleo de AutoDock Vina se validó (Cob-Calan *et al.*, 2019) el sitio activo del Acho-M<sub>3r</sub> con escopolamina (alcaloide antagonista de receptores muscarínicos y presente en especies de la familia Solanáceas), ligando nativo co-cristalizado que permitió una optimización adecuada (RMSD: 2.48 Å). El acoplamiento de **6** con el sitio de unión del Acho-M<sub>3r</sub> permitió el registro de una alta afinidad de unión, sin embargo, la afinidad de escopolamina es superior a la de **6**: -10.18 vs. -5.9 Kcal/mol, respectivamente; valores negativos para la energía libre, sugiere una alta afinidad al sitio de unión. Por otro lado, los valores de *K<sub>i</sub>* son más bajos para la unión con escopolamina respecto a **6** (*K<sub>i</sub>*: 0.03 vs. 0.48 μM). En este sentido, se identifica a **6** como

un antagonista parcial del Acho-M<sub>3r</sub>. El análisis de acoplamiento muestra que **6** interacciona con Acho-M<sub>3r</sub> a través de fuerzas de Van der Waals (ej. Fuerzas de London, Debye y Keesom), las cuales contribuyen a la estabilización del complejo **6**-Acho-M<sub>3r</sub> y así relajar y/o reducir la motilidad del tracto gastrointestinal, fenómeno importante para el proceso de digestión de alimentos y la absorción de fármacos.



**Figura 3.** Simulación de acoplamiento molecular mostrando la interacción entre el taraxasterol (**6**) con residuos del sitio activo del Acho-M<sub>3r</sub>.

#### 4. Conclusiones

Taraxasterol (**6**) es un teórico antagonista parcial de los Acho-M<sub>3r</sub>, y se requiere confirmar y cuantificar la presencia de **6** en los extractos acuosos de *J. gaueri* mediante métodos analíticos y evaluar el efecto de **6** sobre la contracción espontánea o inducida en segmentos aislados del tracto gastrointestinal (*ex vivo*). El análisis de acciones concertadas de **6** y otros metabolitos presentes en hojas de *J. gaueri* permiten comprender los usos descritos en la medicina tradicional de la región.

#### 5. Agradecimientos

Cu-Quiñones agradece a la Universidad Autónoma de Campeche (UACAM) y CONACYT (202-000026-02NACF-30026) por la beca recibida para la realización de los estudios de posgrado. A la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas (FCQB-UACAM) por las facilidades para el desarrollo de esta investigación; de igual forma, agradecemos el apoyo técnico a la QFB Iliana Osorio Horta (FCQB-UACAM).

#### 6. Referencias:

1. Organización Mundial de la Salud (OMS). 2006. Geneve, Suiza OMS
2. De Stefano & Fernández-Concha. 2020. *Desde el Herbario CICY*, 12, 182-186.

3. Báez, C. G., Zamora-Crescencio, P., & Villegas, P. 2016. *Foresta Veracruzana*, 18(1), 1-16.
4. Crescencio, P. Z. 2003. *Polibotánica*, (15), 1-40.
5. Gallegos, J. R. D., Acosta, O. C., & Gil, G. G. 2002. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 18(35), 11-28.
6. Can-Aké, R., Erosa-Rejón, G., May-Pat, F., Peña-Rodríguez, L. M., & Peraza-Sánchez, S. R. 2004. *Revista de la Sociedad Química de México*, 48(1), 11-14.
7. Méndez González, M., Dorantes Euan, A., Pacheco Garrido, G. T., & Durán García, R. 2016. Guía de la colección de plantas medicinales del Banco de Germoplasma PCTY. Yucatán: Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C.
8. Sabandar, C. W., Ahmat, N., Jaafar, F. M., & Sahidin, I. 2013. *Phytochemistry*, 85, 7-29.
9. Aguirre Crespo, F. J., Cerino Pérez, E., Valdovinos Estrella, J. D., Maldonado Velazquez, M. G., Ortega Morales, B. O., Zamora Crescencio, P., Hernández Núñez E., & Estrada Soto, S. E. 2021. *Pharmacognosy Magazine*, 17(73), 23-30.
10. Soria, N. 2018. *Revista de salud publica del Paraguay*, 8(1), 7-8.
11. Secretaría de Salud. Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos. Mexico, 2001, pp 19-31.
12. Jain, P. K., Soni, A., Jain, P., & Bhawsar, J. 2016. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(2), 1-6.
13. Nadeem, S., Sirajuddin, M., Ahmad S, Tirmizi, S. A., Ali, M. I., & Hameed, A. 2016. *Alexandria Journal of Medicine*, 52(3), 279-288.
14. Cheng, F., Li, W., Zhou, Y., Shen, J., Wu, Z., Liu, G., Lee PV., & Tang, Y. 2012. *J. Chem. Inf. Model.*, 52(11), 3099-3105.
15. Cob-Calan N.N., Chi-Uluac L.A., Ortiz-Chi F., Cerqueda-García D., Navarrete-Vázquez G., Ruiz-Sánchez E., Hernández-Núñez E. 2019. *Molecules*, 24(18), 3387
16. Secretaría de Salud. (2008). *Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos México*. Mexico: Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.
17. Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohameh, A., Sahena, F., Jaruhul M.H.A., Ghafoor K., Norulaini N.A.N., & Omar, A. K. M. 2013. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426-436.
18. Azwanida, N. N. 2015. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4(3), 1-6.
19. Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G., & Lightfoot, D. A. 2017. *Plants*, 6(4), 42.
20. Hunger, M., & Weitkamp, J. 2001. *Angewandte Chemie International Edition*, 40(16), 2954-2971.
21. Cuesta Rubio, O., Márquez Hernández, I., & Campo Fernández, M. (2015). Introducción a la Caracterización Estructural de Flavonoides. Machala, Ecuador: Universidad Técnica de Machala.
22. Cassiera-Posada, F., Avila-León, O., & Riascos Ortiz, D. 2012. *Temas Agrarios*, 17(1), 60-71.
23. Derenne, A., Van Hemelryck, V., Lamoral-Theys, D., Kiss, R., & Goormaghting, E. 2013. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1832(1), 46-56.
24. Anza Alemu, M., Gelaw Mekonnen, H., & Annisa, E. 2015. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 3(4), 100-108.
25. Abreu, V. G., Corrêa, G. M., Lagos, I. A., Silva, R. R., & Alcântara, A. F. 2013. *Acta Amazonica*, 43(3), 525-528.
26. Duarte, N. 2008. Structural characterization and biological activities of terpenic and phenolic compounds isolated from *Euphorbia lagascae* and *Euphorbia tuckeyana*. University of Lisbon, 2008.

27. Rufai, Y., Basar, N., & Sani, A. 2019. *Asian J. Chem*, 31(11), 2503-2511.
28. Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. 1997. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 23(1-3), 3-25.
29. Herrera Ruiz, D., Hernández Baltazar, E., Espinosa Lara, J. C., Luz Martínez, I. D., Beltrán Torres, A. A., & Martínez Alejo, J. M. 2012. *Revista Mexicana De Ciencias Farmacéuticas*, 43(1), 18-32.
30. Yang, L., Yan, Q. H., Ma, J. Y., Wang, Q., Zhang, J. W., & Xi, G. X. 2013. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(5), 771-776.
31. Steffansen, B., Nielsen, C. U., Brodin, B., Eriksson, A. H., Andersen, R., & Frokjaer, S. 2004. *European journal of pharmaceutical sciences*, 21(1), 3-16.
32. Caulfield, M. P. 1993. *Pharmacology & therapeutics*, 58(3), 319-379.
33. Flores-Soto M.E., Segura-Torres J.E. *Rev Mex Neuroci* 2005; 6(4): 315-326.