

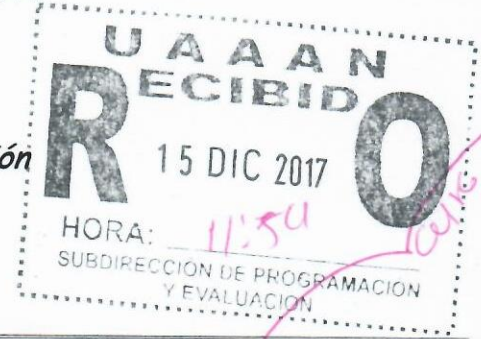


Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

2124 137

Dirección de Investigación

Subdirección de Programación y Evaluación



Proyecto de Investigación 2018

Unidad:	Saltillo	División:	Agronomía	Departamento:	Fitomejoramiento
Tema estratégico (ANA/PEP):	Biotecnología e Insumos de Protección Vegetal				
Programa de Investigación:	Zonas Áridas				
Línea de investigación:	Fitoquímica y Farmacognosia de especies nativas y cultivos de zonas áridas y semiáridas				
Título del proyecto:	Estudios de producción y Fitoquímica de especies y cultivos con potencial industrial y actividad hipoglucémica y citotóxica de extractos de plantas medicinales del semidesierto sobre células cancerígenas humanas				
Presupuesto solicitado (Máximo \$75,000)	\$ 75,000.00	El proyecto es:	Nuevo	Continuación	X
Tipo de investigación:	Básica	X Aplicada	X Tecnológica	X e-mail del responsable	dianajassocantu@yahoo.com.mx
Vinculación:	Si	X No	Fondos concurrentes:	En especie	
Cooperante(s) :	UA de C, CINVESTAV, Instituto Tec. de Durango-UPIDET, Universidad de Limoges, Francia				
Entidad (es):	Coahuila, Zacatecas, Nuevo León, Durango.	Municipio (s):	Saltillo, Galeana, Ramos Arizpe, Parras de la Fuente, Concepción del Oro		
Localidades:	Coahuila., Zacatecas, Nuevo León., Durango				
A realizar durante el año(s):	2018				

Participantes	Adscripción	Expediente	Firma
Responsable	Dra. Diana Jasso Cantú	Fitomejoramiento 425105001	392
Colaborador:	Dr. Raúl Rodríguez García		1061
Colaborador:	Dr. José Á. Villarreal Quintanilla	Botánica 425104001	
Colaborador:	Dra. Ma. de L. V. Díaz Jiménez	CINVESTAV-Ramos Arizpe	
Colaborador:	MC. Fidel Peña Ramos	Suelos	
Colaborador:	Dra. Aidé Sáenz Galindo	FAC. C.QUÍMICAS UA de C	
Colaborador:	Dra. Rosa María Rodríguez Jasso	FAC. C.QUÍMICAS UA de C	
Colaborador:	Dra. Nuria E. Rocha Guzmán	Instituto Tec. de Durango-UPIDET	
Colaborador:	Dr. David Leger	Universidad de Limoges, Francia	
Colaborador:	T.A. Edith E. Chaires Colunga	Fitomejoramiento 425105001	2936
Colaborador:	T.A. María G. Moreno Esquivel	Fitomejoramiento 425105001	2438
Colaborador:	T.A. Olga Leticia Solís Hernández	Fitomejoramiento 425105001	851
Colaborador:	T.A. MA L. Rodríguez González	Fitomejoramiento 425105001	1370
Colaborador:			
Tesista:	Gloria Nallely Puente Romero	Maestría: Ingeniería en Sistemas de Producción	61171517

Tesista

	Vo. Bo.	Autoriza
Firma y sello		

Nombre	Dr. Alfonso Lopez Benitez	Dr. Armando Robledo Olivo
	Jefe del Departamento	Subdirector de Programación y Evaluación

Subdirección de Programación y Evaluación

PYE-01

1.-Título del proyecto

Presupuesto solicitado:

Estudios de producción y Fitoquímica de especies y cultivos con potencial industrial y actividad hipoglucémica y citotóxica de extractos de plantas medicinales del semidesierto sobre células cancerígenas humanas "Encapsulado de extractos de <i>Flourensia</i> spp. como vehículo de incorporación de agentes bioactivos"	\$75,000.00
---	-------------

Introducción

Estudiante de Posgrado: Gloria Nallely Puente Romero, del Programa de Maestría en Ciencias en ISP, quien desarrollará el estudio para la tesis de Maestría.

Dentro del Proyecto "**Estudios de producción y Fitoquímica de especies y cultivos con potencial industrial y actividad hipoglucémica y citotóxica de extractos de plantas medicinales del semidesierto sobre células cancerígenas humanas**", se plantea el estudio del "**Encapsulado de extractos de *Flourensia* spp. como vehículo de incorporación de agentes bioactivos**". Lo anterior como una continuación muy importante del programa que hemos estado desarrollando y el cual ha dado resultado la identificación de las actividades: antifúngica, antibacteriana antiinflamatoria y anticancerígena de las especies de *Flourensia*. Esta etapa es fundamental por la información y beneficios que aportará para una mayor efectividad de los extractos de las plantas en las diferentes actividades mencionadas anteriormente. Estos son los primeros estudios que en ámbito fitoquímico se llevan a cabo en esta institución con las especies endémicas de las zonas áridas y semiáridas.

I. *Flourensia* spp.

La investigación sobre agentes bioactivos de plantas de las zonas áridas y semiáridas ha continuado en el género *Flourensia*, tribu Heliantheae, que consta de 32 especies de arbustos resinosos. Nueve de estas especies son nativas del norte y centro de México. En el presente estudio se evaluarán tres especies endémicas del estado de Coahuila *Flourensia microphylla* (Gray) S.F. Blake [Encelia m. Gray]; *Flourensia cernua* D.C. con los nombres comunes: hojasen, tarbush, blackbrush, bush de barniz; *Flourensia retinophylla* S.F. Blake, nombre común yerba de mula (Jasso de Rodríguez, 2007; Dillon, 1984).

F. cernua es la especie más estudiada. La composición química de la resina consiste en flavonoides (Dillon et al., 1976; Wollenweber and Dietz, 1981), sesquiterpenoides (Télez et al., 1997, 2001), acetilenos, p-acetofenonas, benzofuranos y benzopiranos (Aregullin and Rodríguez, 1983). *Flourensia rethinophylla* tiene agliconas flavonoides; 5, 7,3 - trihidroxi - 3 - isobutiroil - flavanona; 5, 7,3 trihidroxiflavona; 5,7 - dihidroxi - 3 - metoxi - flavanona; 5,7 dihidroxiflavona (Pinocembrina); Kaempferol 3,7 - dimetil éter (Kumatakenin) (Dillon and Mabry, 1977; Stuppner and Müller, 1994).

I. Encapsulación

La nanotecnología es un área emergente de tecnología que se ocupa de la producción, procesamiento y aplicación de materiales de tamaño inferior a 1000 nm. La British Standards Institution ha definido la nanotecnología como el diseño, la caracterización, la producción y la aplicación de estructuras, dispositivos y sistemas mediante el control de la forma y el tamaño en la nanoescala que es 10^{-9} m (Bagchi et al., 2013). La encapsulación es una tecnología con muchas

aplicaciones potenciales en áreas tales como las industrias farmacéutica y de alimentos. La encapsulación de moléculas bioactivas a nanoescala se conoce como nanoencapsulación (Quintanilla-Carvajal et al., 2010).

El método de encapsulación se ha empleado para proteger compuestos bioactivos (polifenoles, micronutrientes, enzimas, antioxidantes y nutracéuticos), del medio ambiente adverso y para la liberación controlada en sitios específicos (Gouin, 2004; Ezhilarasi et al., 2013). Lo anterior da como resultado mayor eficacia de dosificación y mejora la rentabilidad del producto (Mozafari, 2006).

La microencapsulación de compuestos de actividad biológica (ADN, fármacos, proteínas, probióticos, enzimas, etc.), desde el punto de vista tecnológico, podría definirse como el proceso de recubrimiento de dichos compuestos, bajo la forma de moléculas, partículas sólidas o glóbulos líquidos, con materiales de distinta naturaleza, para dar lugar a partículas de tamaño micrométrico. Esta tecnología se utilizó en el pasado para enmascarar el sabor desagradable de ciertos ingredientes y también para transformar los líquidos en sólidos. Sin embargo, en los últimos años, el concepto de liberación controlada del ingrediente encapsulado en el sitio específico y en el momento adecuado, se ha vuelto cada vez más interesante e investigado.

Las microcápsulas se diferencian de las microesferas principalmente por el tipo de estructura interna. En el primer caso, el principio activo, que puede ser de naturaleza líquida o sólida, se encuentra incluido en una especie de reservorio recubierto por una fina película de material. En el caso de las microesferas, el principio activo se encuentra altamente disperso bajo la forma de diminutas partículas o de moléculas en una matriz de material que puede ser lo mismo del recubrimiento. La obtención de un tipo de estructura u otro, depende de las propiedades fisicoquímicas del principio activo y del material de recubrimiento, así como del proceso tecnológico elegido (Arneodo, 1996).

II. Aplicación biológica de micro y nanocápsulas

Hasta el presente, la mayor desventaja de los tratamientos que implican transporte de fármacos, es la inadecuada distribución de los medicamentos (Grande, 2007). Las micro y nanocápsulas son utilizadas en aplicaciones farmacéuticas, debido a que son sistemas muy interesantes transportadores de fármacos que no puedan administrarse vía oral: como son los nuevos fármacos producto de la revolución biotecnológica, proteínas, péptidos, hormonas o enzimas, los cuales son degradados fácilmente por las enzimas del tracto gastrointestinal (Sáez et al., 2004).

Para la liberación controlada de fármacos es necesaria la previa encapsulación o desactivación de los compuestos activos, para que no actúen durante su tránsito por el cuerpo hasta llegar al lugar afectado, de forma que mantengan intactas sus propiedades físico - químicas y que se minimicen posibles efectos secundarios en otras zonas del cuerpo. Una vez que el fármaco ha llegado a su destino, debe liberarse a una velocidad apropiada para que sea efectivo, lo cual se puede hacer mediante una variación de ciertas condiciones (pH, temperatura, etc.) en la zona dañada, o mediante un control preciso de la velocidad de degradación del material encapsulante, permitiendo que la liberación del fármaco sea controlada (Lechuga, 2011).

Los fármacos terapéuticos se administran en forma intravenosa y por lo tanto se distribuyen en el

torrente sanguíneo, con el consecuente efecto no deseado de que atacan todo tipo de células, incluidas las sanas. Por ejemplo, los efectos secundarios de la administración de anti-inflamatorios en pacientes con artritis crónica conllevan a la suspensión de su uso; sin embargo, si su aplicación pudiera localizarse sólo en la parte afectada, entonces podría aplicarse una droga potente y efectiva de forma continua.

Las técnicas actuales de producción y caracterización de micro y nanocápsulas han permitido descubrir un nuevo mundo de propiedades físicas que no pueden explicarse con los esquemas clásicos bien establecidos en la teoría de la materia condensada. El tamaño de las micro y nanocápsulas y su capacidad para enlazar moléculas orgánicas permite su utilización como transportador de fármacos a sitios específicos dentro del organismo (Grande, 2007).

Objetivos

Objetivo General:

- Evaluar el desarrollo y la eficiencia de cápsulas de extractos de *Flourensia* spp. como vehículo de incorporación de agentes bioactivos.

Objetivos Específicos:

- Obtener cápsulas (macro, micro y nano) de extractos de etanol de *Flourensia cernua*, *F. microphylla* y *F. retinophylla* mediante técnicas de gelificación y emulsificación.
- Comparar la estabilidad, actividad antioxidante y caracterización de los extractos y encapsulados de las tres especies de *Flourensia*.
- Evaluar la estabilidad de los extractos encapsulados a través de análisis de liberación controlada en un sistema de jugos gástricos e intestinales.

Hipótesis

Los extractos encapsulados de *Flourensia* spp. mejoran la estabilidad y eficiencia como agentes bioactivo.

Revisión de Literatura

I. *Flourensia* spp.

Los extractos de etanol de *F. microphylla*, *F. cernua* y *F. retinophylla* inhibieron el desarrollo micelial de: *Alternaria* sp., *R. solani* y *F. oxysporum* en función de las dosis aplicadas. Se observó efecto de inhibición de los patógenos a partir de $10 \mu\text{L}^{-1}$ de las tres especies, aunque la inhibición total se logró en *R. solani*, con una concentración de $1000 \mu\text{L}^{-1}$ de *F. cernua* y *F. retinophylla* y los tres patógenos fueron inhibidos con una concentración de $1500 \mu\text{L}^{-1}$ de las tres especies de *Flourensia*. El análisis por FTIR mostró señales de absorción similares para los extractos de las tres especies y sugiere que pueden estar presentes compuestos similares. Se tienen reportes de actividad antifúngica de *F. cernua*, sin embargo este es el primer reporte de actividad antifúngica de *F. retinophylla* y *F. microphylla* (Jasso de Rodríguez, 2007).

F. microphylla es una gran fuente de compuestos antioxidantes. Los extractos de acetona exhibieron mayores propiedades anti-inflamatorias que los extractos de etanol. Además los

extractos de etanol y acetona reportaron actividad antiproliferativa sobre las células de cáncer de colon HT-29, induciendo la apoptosis por la vía extrínseca e intrínseca, respectivamente. Los extractos de *microphylla* pueden ser utilizados como una alternativa natural para prevenir el cáncer de colon. Este es el primer informe científico de las actividades antioxidantes, antiinflamatorias y apoptóticas, así como la composición química de los extractos de *F. microphylla* (Jasso de Rodríguez et al., 2017a).

II. Encapsulación

Se ha reportado que la encapsulación en general aumenta la estabilidad física de los aceites esenciales y protege los compuestos bioactivos de las interacciones con el medio ambiente adverso. Además disminuye la volatilidad y toxicidad de los compuestos, incrementando su bioactividad. La nanoencapsulación de los aceites esenciales también ayuda en la liberación sostenida y controlada, así como en la penetración del tejido profundo y la captación celular, debido al tamaño nanométrico y a la protección de los niveles tanto extracelular como intracelular. Las nanocápsulas se pueden preparar con una gran variedad de materiales y diseños (Ravi Kumar, 2000).

Los procesos de microencapsulación permiten que un aceite esencial, reduzca la reactividad del aceite frente a las condiciones ambientales (estabilizar y proteger durante el almacenamiento), y disminuya la velocidad de evaporación, además de controlar la velocidad de liberación y proveer liberación sostenida de los volátiles, así como estabilizar compuestos específicos, mejorar la compatibilidad con otros constituyentes en las formulaciones, prolongar la vida útil del producto y facilitar la manipulación del aceite esencial (Branon-Pepas, 1993).

Dentro de las evaluaciones realizadas de diversas formas de producción de microcápsulas, Lopretti et al. (2015), concluyeron que es de gran interés el uso de las microesferas y microcápsulas como sistemas de protección y liberación controlada.

III. Aplicación biológica de cápsulas

El tracto gastrointestinal está integrado por las siguientes partes: boca, faringe, esófago, estómago, intestinos delgado y grueso, recto y ano (Mataix-Verdú, 2009; Prakash et al., 2011). Es importante mencionar la composición principal de las secreciones gástricas, que están constituidas principalmente de HCL y pepsina (la cual se activa a un pH óptimo de 3), y electrolitos como K^+ , Na^+ , Mg^{++} , fosfato (PO_4^{-3}) y sulfato (SO_4^{-2}). Además la secreción intestinal está integrada por HCO_3^- y K^+ , y la secreción biliar está constituida por Na^+ , Cl^- , HCO_3^- y bilis. Finalmente la secreción pancreática está compuesta mayoritariamente por K^+ y Cl^- , además de enzimas como tripsina, quimotripsina, carboxipeptidasa, proelastasas y lipasas (Mataix-Verdú, 2009).

Una interesante forma de evaluación, liberación y resistencia de los agentes bioactivos encapsulados son los modelos gastrointestinales, que simulan las condiciones del tracto gastrointestinal.

El modelo convencional simula las condiciones del estómago o intestino, de manera independiente, y consiste de un solo recipiente de vidrio con agitación y temperatura de $37^\circ C$ (Gbassi y Vandamme, 2012). De manera más amplia, el modelo consiste en simular las condiciones de la digestión dividiéndola en tres fases, las cuales son la gástrica, entérica y entérica final. En la primera fase, el medio que más se utiliza es NaCl (2 a 5 g/L), para tener un medio isotónico y así mantener la integridad y viabilidad de los microorganismos. Además de mantener un

pH del fluido gástrico de 1 a 3, intervalo de pH en el estómago de los seres humanos (Gbassi y Vandamme, 2012); para el ajuste del pH se utiliza HCl. Con frecuencia, a este fluido se le adiciona pepsina (Chávarri et al., 2010), el tiempo de exposición de los agentes bioactivos encapsulados en este medio es de hasta 120 minutos (Gbassi y Vandamme, 2012). Para la fase entérica, el medio más utilizado contiene sales de sodio como Na_2HPO_3 , el rango de pH utilizado para este fluido es de 6 a 8 y bilis (Gbassi y Vandamme, 2012), el tiempo de exposición utilizado para esta fase es de 120 minutos.

Y en la fase entérica final, Nejati et al. (2011) y Soodbakhsh et al. (2012) proponen utilizar las mismas condiciones de la fase entérica pero ajustando el pH de 6.7 a 7.5 con un tiempo de exposición de 120 minutos. Sin embargo también se puede utilizar pectina, glucosa, almidón, extracto de levadura, KH_2PO_4 y con un tiempo de exposiciones de 24 horas.

Procedimiento Experimental

1. Obtener los extractos de etanol de las plantas de *Flourensia cernua*, *F. microphylla* y *F. retinophylla*.

Las muestras serán colectadas al azar a partir de 15 plantas por especie. *F. cernua* y *F. microphylla* serán colectadas en dos sitios al sur de Saltillo por la carretera 54, Saltillo- Zacatecas. *F. retinophylla* se localiza al norte de Saltillo. Las muestras se colocarán en bolsas de polietileno y se transportarán al laboratorio de Fitoquímica de la UAAAN. Las hojas serán separadas de los tallos y se procederá a obtener los extractos de las hojas en etanol por el método de Soxhlet. (Jasso de Rodríguez et al., 2007)

2. Caracterizar los extractos por: actividad antioxidante, polifenoles, composición química por GC-MS y HPLC.

a) Actividad Antioxidante por DPPH

Se introduce en la celda del espectrofotómetro UV, 2 mL de la disolución de DPPH 0.1 mM, se toman 200 mg/L del extracto disuelto en metanol y se aforan a 10 mL, se añade 0.05 mL de esta disolución a la celda.

Se lee la absorbancia a 517 nm, se determina el porcentaje de inhibición a los 30 minutos.

$$\% \text{ Inhibición} = \left[\frac{(A_0 - A_e)}{A_0} \right] \times 100$$

Donde A_0 es absorbancia sin extracto y A_e es absorbancia con extracto.

b) Polifenoles por ensayo de Folin

a. Reactivo Doble

Se prepararán 2000 mg/L de los extractos en metanol y se transferirán 40 μL de muestra a un tubo de tapón roscado de 10 mL, se añadirá 800 μL del reactivo Folin-Ciocalteau diluido 10 veces en el tubo y mezclar bien, se deja reposar el tubo durante 5 minutos, posteriormente se añaden 800 μL de solución acuosa al 7% de carbonato sódico al tubo y se mezclan bien, añadir 360 μL de agua destilada y mezclar bien. Dejar reposar durante 2 horas a temperatura ambiente.

Leer la absorbancia 750 nm frente al blanco utilizando un espectrofotómetro UV.

Se usó la línea de regresión $y = mx + c$ de la curva estándar para determinar la concentración polifenólica de los extractos (Rodríguez-Jasso et al., 2014).

b. Reactivo Único

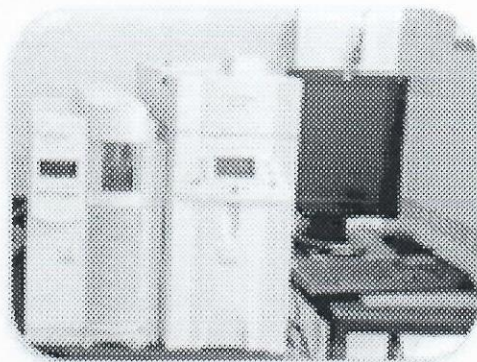
Se prepararán 2000 mg/L de los extractos en etanol concentrado, se transferirán 40 µL de la muestra a un micro tubo, añadir 1 mL de un reactivo Folin-Ciocalteu diluido 5 veces y mezclar, dejar reposar el micro tubo durante 15 minutos y leer la absorbancia a 750 nm en un espectrofotómetro UV contra un blanco reactivo.

La línea de regresión de la curva estándar ($y = mx + c$) se utilizara para determinar la concentración polifenólica (µM) en las distintas muestras analizadas.

y = absorbancia, m = gradiente, x es la concentración a determinar.

(Agbor, 2014)

c) Composición química por GC-MS y HPLC.



Cromatógrafo de gases
acoplado a espectrometría de
masas (Composición química)

GC-MS (Jasso de Rodríguez et al.,
2017b)
HPLC (Jasso de Rodríguez et al., 2017a)

3. Obtención de cápsulas de los extractos de etanol mediante técnicas de gelificación y emulsificación.

a) Gelificación

Preparación de alginato

- Pesar 3 gr de alginato de sodio.
- Agregar poco a poco a 100 mL de agua destilada.
- Mantenerlo en agitación a 100°C hasta su completa dispersión.
- Agregar 0.5 gr de extracto.
- Aforar 200mL.



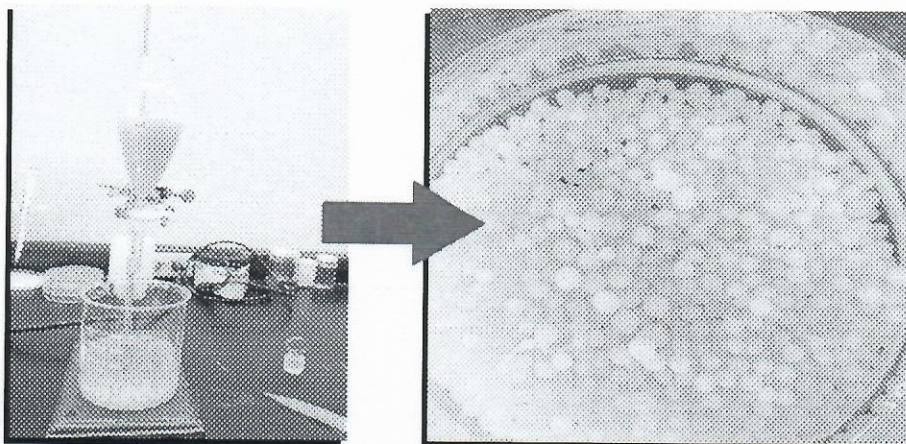
Preparación de cloruro de calcio

- Pesar 3 gr de cloruro de calcio.
- Agregar a 200 mL de agua destilada



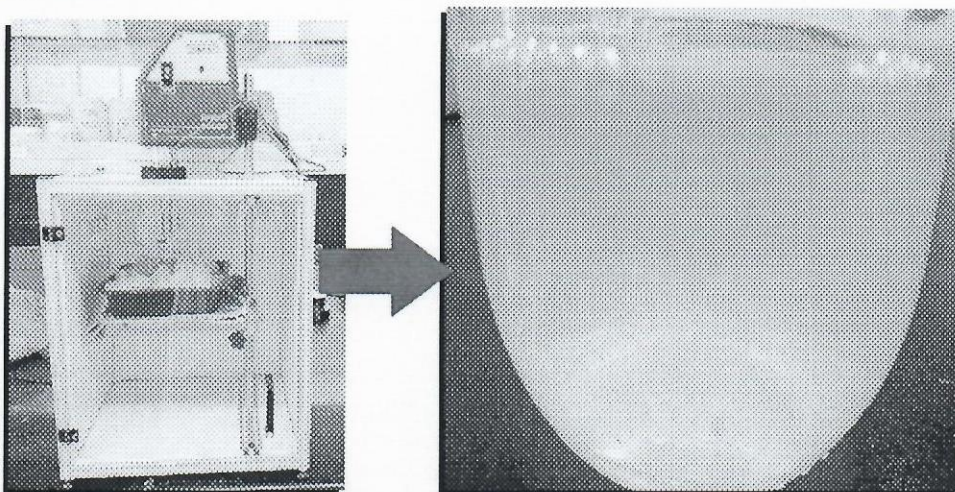
Obtención de macro cápsulas

- Una vez dispersado el extracto se iniciará el goteo sobre la solución de cloruro de calcio obteniéndose las cápsulas.



Obtención de micro cápsulas

- Las macro cápsulas son llevadas al Ultrasonido por 30 min para la obtención de microcápsulas.



b) Emulsificación

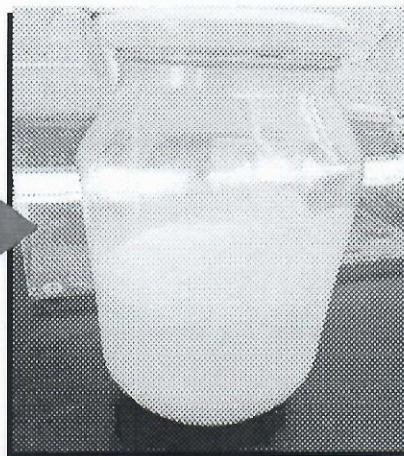
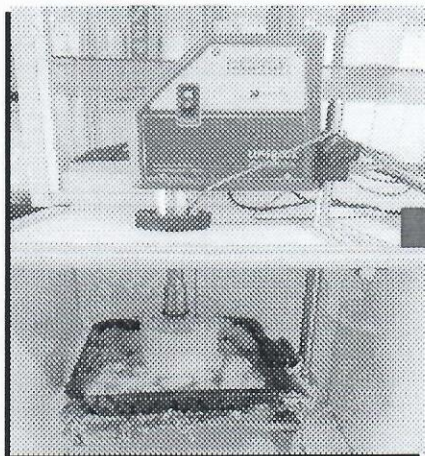
Preparación de la solución

- Agregar 240 mL de ácido oléico.
- Agregar 0.5 gr de extracto.
- Agregar 60 mL de Tween 20.
- Colocar en un baño de Ultrasonido hasta que se disuelva totalmente el extracto.



Obtención de cápsulas de tamaño nanométrico

- En el ultrasonido colocar 200 mL de agua destilada.
- Agregar poco a poco la mezcla de Ácido oléico, tween 20 y el extracto.
- Mantenerlo por 20 min.

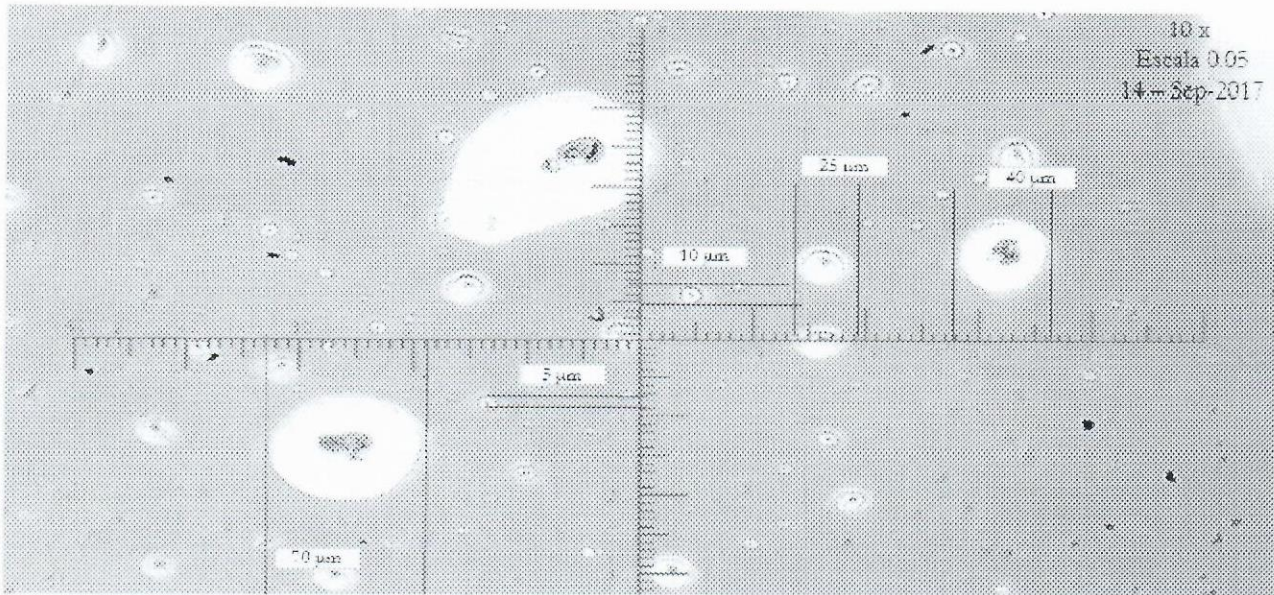


(Villena et al., 2009)

4. Caracterización de las cápsulas por Microscopio binocular, Microscopía Electrónica de Barrido, Potencial Z, Infrarrojo y Difractómetro de rayos X.

a) Microscopio binocular

Microcápsulas por método de gelificación (extracto *Flourensia microphylla*)

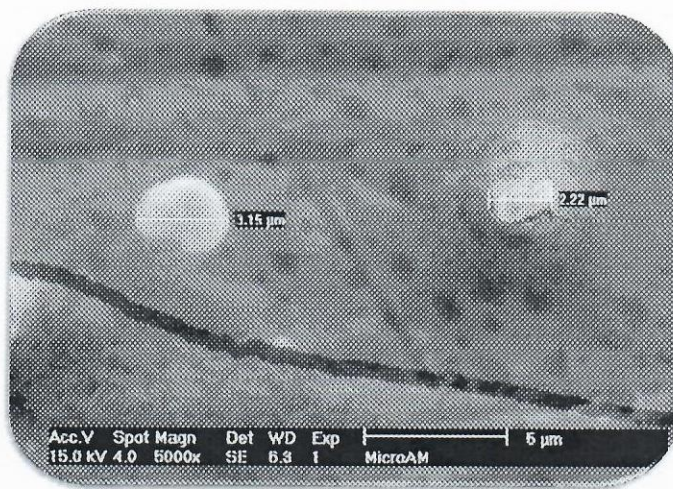
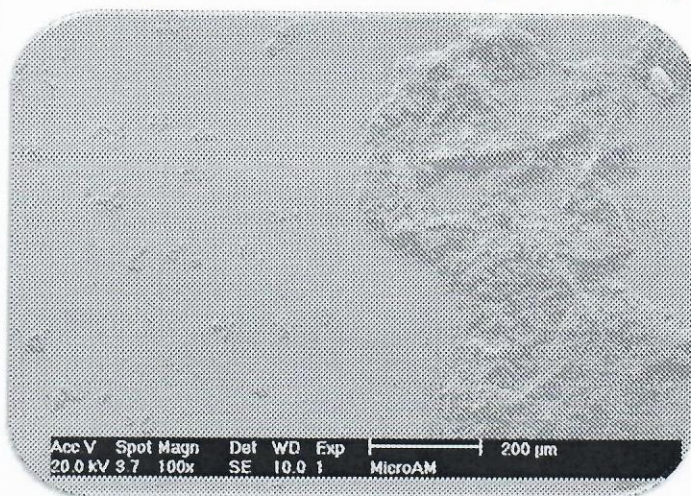


Cápsulas por método de emulsificación (extracto *Flourensia microphylla*)



b) Microscopio electrónico de barrido

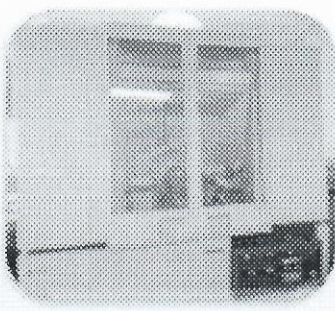
Cápsulas por método de gelificación (extracto *Flourensia microphylla*)



c) Potencial Z, Infrarrojo y Difractómetro de rayos X.



Infrarrojo
(Caracterizar
nanocápsulas)



Difractómetro de
rayos X
(Cristalinidad)

(Jasso de Rodríguez et al., 2015)

5. Evaluación de cinéticas de liberación del extracto a partir de las cápsulas así como la estabilidad y actividad antioxidante.

a) Liberación controlada

a. Modelo de jugos gástricos

- NaCl (9 g/L) con un pH de 1-3 ajustarlo con HCl.
- Colocar en un recipiente de vidrio con agitación a una temperatura de 37°C.
- Agregar 20 mL de las macro cápsulas de cada extracto de *Flourensia*.
- Dejarlo por 2 horas y leer la absorbancia

b. Modelo de jugos intestinales

- Solución de NaCl (6.5 g/L), KCl (0.8 g/L), CaCl₂ (0.2 g/L), NaHCO₃ (1.4 g/L) con un pH de 6.5 – 7.5.
- Agregar 20 mL de las macro cápsulas de cada extracto de *Flourensia*.
- Mantener en agitación y a una temperatura de 37°C durante 20 horas.
- Leer la absorbancia.

(Villena et al., 2009)

b) Estabilidad

- Realizar la caracterización inicial.
- Dejar en observación un lote de capsulas durante 6 meses.
- Evaluar la caracterización cada mes.

c) Actividad Antioxidante y polifenoles

- DPPH
- Ensayo de Folin

Diseño estadístico

- Diseño completamente al azar, con 4 repeticiones. (3 especies, 1 métodos y 2 técnicas)
 - Tratamientos: 6
 - ANVA y Prueba de Medias con Tukey ($p = 0.05$)
- Variables a evaluar: % liberación y tiempo de liberación.

Cronograma de actividades.

Actividad a realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Revisión bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Colecta de plantas y preparación de extractos		X	X	X								
Caracterización de los extractos		X	X	X								
Aislamiento e identificación de biocompuestos								X	X	X		
Producción de cápsulas	X	X	X					X	X	X		
Caracterización y evaluación de las cápsulas		X	X	X	X	X						
Aplicación de tratamientos			X	X	X	X						
Análisis de datos			X	X	X	X						
Escritura de artículo científico		X	X	X	X	X						
Escritura de tesis	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Presentación en congreso					X				X			
Presentación de examen de grado												X

Cronograma de distribución de presupuesto para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Colecta de plantas y preparación de extractos		X	X	X								
Caracterización de los extractos	X	X										
Aislamiento e identificación de biocompuestos	X	X										
Producción de cápsulas	X	X										
Caracterización y evaluación de las cápsulas	X	X										
Presentación en congreso					X				X			

Duración total del proyecto

Año de Inicio	2012	Año estimado de conclusión	Indefinido
---------------	------	----------------------------	------------

5.-Productos esperados

Un artículo científico en revista internacional indizada
 Una tesis de licenciatura
 Dos ponencias en congreso internacional.

6.-Literatura citada

- Agbor, G. A., Vinson, J. A., & Donnelly, P. E. (2014). Folin-Ciocalteu reagent for polyphenolic assay. *Int J Food Sci Nutr Diet*, 3(8), 147-156.
- Aregullin, M., Rodríguez, E., 1983. Phytochemical studies of the genus *Flourensia* from the Chihuahuan desert. In: Proceedings of the Second Chihuahuan Desert Symposium, University of California, Irvine, CA, October 1986.
 - Arneodo, C. J. F. (1996). Microencapsulation by complex coacervation at ambient temperature. *FR*, 2(732), 240.
 - Bagchi, D., Bagchi, M., Moriyama, H., Shahidi, F., 2013. Bio-Nanotechnology: A Revolution in Food, Biomedical and Health Sciences, first ed. Wiley-Blackwell, Sussex, U.K..
 - Branon-Pepas L. Controlled release in the food and cosmetics industries. In Polymeric Delivery Systems. El-Nokaly M., et al. Chapter 3, 1993, pp. 42-52; *ACS Symposium Series*, Volume 520..
 - Chávarri, M., Marañón, I., Ates, R. and Ibañez, C. (2010). Microencapsulation of probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. *International journal of Food Microbiology*, 142, 185-189.
 - Dillon, M.O., 1984. Taxonomy of the genus *Flourensia* (Asteraceae). *Fieldiana n. ser.* 16, 1-66.
 - Dillon, M.O., Mabry, T.J., 1977. Flavonoid aglycones from *Flourensia*. *Phytochemistry* 16, 1318-1319.
 - Dillon, M.O., Mabry, T.J., Besson, E., Bouillant, M.L., Chopin, J., 1976. New flavonoids from *Flourensia cernua*. *Phytochemistry* 15, 1085-1086.
 - Ezhilarasi, P.N., Karthik, P., Chhanwal, N., Anandharamkrishnan, C., 2013. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food Bioprocess Tech.* 6 (3), 628-647.
 - Gbassi, G. y Vandamme, T. (2012). Probiotic encapsulation technology: from microencapsulation to release into the gut. *Pharmaceutics*, 4(1), 149-163.
 - Gouin, S., 2004. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends Food Sci. Tech.* 15 (7-8), 330-347.
 - Grande, A. H. (2007). Nanotecnología y nanopartículas magnéticas: La física actual en lucha contra la enfermedad. *Rev. R. Acad. Cienc. Exact. Fis. Nat.*, 101(2), 321-327.
 - Jasso de Rodríguez, D. J., Carrillo-Lomelí, D. A., Rocha-Guzmán, N. E., Moreno-Jiménez, M. R., Rodríguez-García, R., Díaz-Jiménez, M. L. V. & Villarreal-Quintanilla, J. A. (2017). Antioxidant, anti-inflammatory and apoptotic effects of *Flourensia microphylla* on HT-29 colon cancer cells. *Industrial Crops and Products*.
 - Jasso de Rodríguez, D., Hernández-Castillo, D., Angulo-Sánchez, J.L., Rodríguez-García, R., Villarreal-

- Quintanilla, J.A. and R.H. Lira-Saldivar. 2007a. Antifungal activity *in vitro* of *Flourensia* spp. extracts on *Alternaria* sp., *Rhizoctonia solani*, and *Fusarium oxysporum*. *Industrial Crops and Products* 25: 111–116.
- Jasso De Rodríguez, D., Salas-Méndez, E. de J., Rodríguez-García, R., Hernández-Castillo, F.D., Díaz-Jiménez, M.L.V., Sáenz-Galindo, A., González-Morales, S., Flores-López, M.L., Villarreal-Quintanilla, J.A., Peña-Ramos, F.M., Carillo-Lomelí, D.A., 2017b. Antifungal activity in vitro of ethanol and aqueous extracts of leaves and branches of *Flourensia* spp. against postharvest fungi.
 - Jasso de Rodríguez, D., Trejo-González, F.A., Rodríguez-García, R., Díaz-Jiménez, M.L.V., Sáenz-Galindo, A., Hernández-Castillo, F.D., Villarreal-Quintanilla, J.A., Peña-Ramos, F.M., 2015. Antifungal activity in vitro of *Rhus muelleri* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Ind. Crops Prod.* 75, 150–158.
 - Lechuga, L. M. (2011). Nanomedicina: aplicación de la nanotecnología en la salud. *Biotecnología aplicada a la salud humana*, 9, 100-102.
 - Lopretti, M., Barriero, F., Fernandes, I., Damboriarena, A., Ottati, C., & Olivera, A. (2011). Microencapsulación de compuestos de actividad biológica. *INNOTEC*, (2 ene-dic), 19-23.
 - Mataix-Verdú, J. (2009). Tratado de Nutrición y Alimentación (Vol. 1). Barcelona: OCEANO /ergon.
 - Mozafari, M.R., 2006. Bioactive entrapment and targeting using nanocarrier technologies: an introduction. In: Mozafari, M.R. (Ed.), *Nanocarrier Technologies: Frontiers of Nanotherapy*. Springer, Netherlands, pp. 1–16.
 - Nefzi, A., Jabnoun-Khiareddine, H., Abdallah, R. A. B., Ammar, N., Medimagh-Saïdana, S., Haouala, R., &
 - Nejati, R. Gheisari, H. and Hosse, S. (2011). Viability of encapsulated *Bifidobacterium lactis* (BB-12) in symbiotic of cheese and it's survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *Internatioanl journal of probiotics ande prebiotics*, 6 (3/4), 197-204..
 - Prakash, S., Tomaro-Duchesneau, C., Saha, S., and Cantor, A. (2011). The gut microbiata and human health with an emphasis on the use of microencapsulated bacterial cells. Review. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011 Article ID 981214, 1-12.
 - Quintanilla-Carvajal, M.X., Camacho-Díaz, B.H., Meraz-Torres, L.S., Chanona- Pérez, J.J., Alamilla-Beltrán, L., Jimenez-Aparicio, A., Gutiérrez-López, G.F., 2010. Nanoencapsulation: a new trend in food engineering processing. *Food Eng. Rev.* 2 (1), 39–50.
 - Ravi Kumar, N.M., 2000. Nano and microparticles as controlled drug delivery devices. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 3 (2), 234–258.
 - Rodríguez-Jasso, R.M., Mussato, S.I., Pastrana, L., Aguilar, N.C., Teixeira, J., 2014. Chemical composition and antioxidant activity of sulphated polysaccharides extracted from *Fucus vesiculosus* using different hydrothermal processes. *Chem. Papers* 68, 203–209.
 - Sáez, V., Hernáez, E., Sanz Angulo, L., & Katime, I. (2004). Liberación controlada de fármacos. Micropartículas. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 5(2), 87-101.
 - Soodbakhsh, S., Gheisari, H., Aminlari, M. and Dehnavi, T. (2012). Viability of encapsulated *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium lactis* in symbiotic frozen yogurt anda their survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *International Journal of Probiotics*, 7(3/4), 121-128.
 - Stuppner, H., Müller, E.P., 1994. Rare flavonoid aglycones from *Flourensia retinophylla*. *Phytochemistry* 37, 1185–1187.
 - Tellez, M., Estell, R., Fredrickson, E., Havstad, D., 1997. Essential oil of *Flourensia cernua* D.C. *J. Essent. Oil Res.* 9, 619–624
 - Tellez, M., Estell, R., Fredrickson, E., Powell, J., Wedge, D., Schrader, K., Kobaisy, M., 2001. Extracts of *Flourensia cernua* (L.): volatile constituents and antifungal, anti-algal, and anti-termite bioactivities. *J. Chem. Ecol.* 27, 2263–2273.
 - Villena, M. M., Hernández, M. M., Lara, V. G., & Martínez, M. R. (2009). Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *Ars Pharmaceutica*, 50(1), 43-50.
 - Wollenweber, E., Dietz, V.H., 1981. Occurrence and distribution of free flavonoid aglycones in plants. *Phytochemistry* 20, 869–932.