

ESTANDARIZACIÓN Y ESTUDIO ANALÍTICO DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Jatropha dioica*

Rosalinda Gutiérrez Hernández^a, Claudia Araceli Reyes Estrada^a, Blanca Patricia Lalalde Ramos^b, Ana Lourdes Zamora Perez^c, José Luis Martínez Rodríguez^a, Rubén Octavio Méndez Márquez^b y Joana Etzel Rodríguez Raudales^a.

^aDoctorado en Farmacología, Unidad Académica de Medicina Humana y Ciencias de la Salud.

^bUnidad Académica de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Zacatecas.

^cInstituto de Investigación en Odontología de la Universidad de Guadalajara.

Resumen

Las plantas desde épocas remotas han sido el recurso natural más importante en la vida del hombre, ya que pueden influir como alimento y como medicamento. Existe una gran variedad de plantas relacionadas con efectos terapéuticos, como es el caso de la *Jatropha dioica* (Sangre de Grado), apreciada por sus numerosas actividades como antiviral, antibacteriano, cicatrizante, inmunomodulador y antiinflamatorio. El presente trabajo tuvo como objetivo establecer un método optimizado para estandarizar la extracción y realizar el estudio analítico de la raíz de Sangre de Grado con la finalidad de evaluar la presencia de estructuras diversas mediante técnicas colorimétricas, para explotar en un futuro inmediato su efecto etnofarmacológico. Se establecieron condiciones experimentales en donde se realizaron diversas extracciones con distintos solventes y bajo diferentes condiciones. Resultando para este tipo de trabajo como solvente ideal el agua, mediante un procedimiento a base de secado, macerado y liofilizado. A su vez el análisis fitoquímico evidenció la presencia de flavonoides, taninos, saponinas, cumarinas, alcaloides, quinonas, glicósidos cardiacos, glicósidos cianogénicos, azúcares reductores y antranas. Se concluye a partir del análisis colorimétrico una mayor variedad de fitocompuestos presentes en *Jatropha dioica* mediante el método de extracción acuosa, evidenciando información general acerca de su posible efecto etnofarmacológico en actividades terapéuticas.

Antecedentes

En épocas pasadas, la naturaleza era el medio de supervivencia fundamental para los individuos. Las plantas eran los medicamentos más frecuentes, baratos y accesibles, pero poco a poco se ha obtenido información indispensable para poder utilizar las plantas de una forma más científica. Según la literatura en México 84% de los habitantes emplean las plantas como medicina herbolaria (Tomado de <http://ecoosfera.com/2015/10/la-medicina-alternativa-es-parte-de-la-tradicion-mexicana-piensa-el-84/>). Disponible 03 de octubre del 2016. 13:00 pm).

Existen diferentes familias de plantas consideradas medicinales, una de ellas es la de las *Euphorbiaceae*, esta es la sexta familia heterogénea entre las Angiospermas seguida de las *Orchidaceae*, *Compositae*, *Leguminosae*, *Gramineae* y *Rubiaceae* (Smith and Carter 1987). Tiene 5 subfamilias como son *Phyllanthoideae*, *Oldfieldioideae*, *Acalyphoideae*, *Crotonoideae* y *Euphorbioideae* con 317 géneros (Webster 1994) y alrededor de 8100 especies (Webster 1994) (Radcliffe-Smith and Esser 2001); (Bolker, Brooks et al. 2009) distribuidas a nivel mundial. Aunque se dice que la mayor parte de las especies existentes se encuentran en las subfamilias *Acalyphoideae*, *Crotonoideae* y *Euphorbioideae* (Il 2003).

Dentro de la Subfamilia *Crotonoideae*, tribu *Jatropeae* existen 8 géneros diferentes los cuales son: *Annesijoa*, *Deutzianthus*, *Jatropha* (*Adenorhopium*, *Adenoropium*, *Castiglioni*, *Collenucia*, *Curcas*, *Jatropa*, *Loureira*, *Mesandrinia*, *Mozinna*, *Zimapania*), *Joannesia* (*Anda*, *Andicus*), *Leeuwenbergia*, *Loerzingia*, *Oligoceras* y *Vaupesia* (Martínez Gordillo, Jiménez Ramírez et al. 2002); (Gnecco, PEREZ et al. 2011).

El género *Jatropa* cuyo nombre proviene de los vocablos griegos *Jatros* (doctor sanador) y *Trophe* (Alimento o nutrición) es el más abundante en México (Zolla and Argueta 2009), se conocen 175 especies las cuales se utilizan como medicina tradicional.

Según la literatura este arbusto habita en México, en matorrales secos en el noroeste centro del país, en cerros, plano, tepetate y en suelo pedregoso en un rango de altitud de 5-2800 m. (Martínez and Matuda Matuda 1979). Se ha encontrado también en Estado de México, Durango (San Juan Mogote), Zacatecas, Chihuahua (Desierto) (Flores and Jurado 2003); (Sosa, Galarza et al. 2006); (Rivera García 2006); San Luis Potosí (Real de Catorce), Tamaulipas (Martínez-Ávalos 1998), Oaxaca, Veracruz, Chiapas, Jalisco, Guerrero, Michoacán, Sonora, Sinaloa, Puebla y Nayarit (Ramírez, Gordillo et al.) La *Jatropha dioica* o comúnmente conocida como Sangre de Grado, Drago o Sangregrado se describe como un arbusto aproximadamente 70-100 cm de altura, es una planta perene con tallos fibrosos, flexibles, oscuros, lisos, correosos, tienen savia clara astringente, que al contacto con el ambiente, se torna rojizo (látex rojizo), las hojas son fasciculadas lineales a tipo espada, a veces lobuladas de 1-7cm, flores blancas con rosa muy pequeñas y frutos con semilla negra muy globosa de 8-10mm. Comúnmente las hojas solo aparecen en temporada de lluvia (A. Rocha-Estrada et al; 2012).



Tomada de: http://www.wildflower.org/gallery/result.php?id_image=10497. Disponible 4 de octubre 2016 11:35 am.

A la *Jatropha dioica* se le atribuyen actividades biológicas como antiinflamatoria, antimicrobiana, antitumoral, citotóxica (Silva-Belmares, Rivas-Morales et al. 2014), antiescorbútica, antiséptica, astringente, además para la dermatosis, hemorroides, piorrea (encías) y como tónico capilar; de aplicación externa o como infusión para el tratamiento de: Caída del cabello, contra la caspa y orzuela, dolor de dientes, amacizar la dentadura, para quitar callos, sacar espinas, parar hemorragias, cicatrizar heridas, quitar granitos, salpullido, lavar heridas, dolor de riñones, espalda y corazón, problemas de digestión “empacho”, debilidad por reumas, várices, dolor de piernas y cáncer (Tomado de: http://copladet.tamaulipas.gob.mx/planes_mpales_08/bustamante.pdf.; INEGI; 2011; Tomado de: www.inegi.org.mx.; Martínez, M; 2004:).

La *Jatropha dioica* al igual que otras plantas contienen fitocompuestos, los cuales les dan sus características terapéuticas a las plantas para que tengan efecto en patológicas implicadas en los seres vivos (Romeu Carballo, Botta Ferret et al. 2012).

La extracción de los principios activos de las plantas se puede hacer a partir de extractos de plantas ya sea acuosos o polvos utilizando diferentes solventes, dependiendo de su polaridad. Se considera que estos compuestos obtenidos de plantas son biodegradables y seguros para su uso como una alternativa para el control de la enfermedad. (Guerrero-Rodríguez, Solís-Gaona et al. 2007). Estos compuestos o metabolitos obtenidos se pueden dividir en tres grupos químicamente diferentes:

Los terpenos, fenoles y compuestos con nitrógeno. En la Figura 1 se muestra un esquema de las rutas metabólicas de biosíntesis (Taiz, Taiz et al. 2006).

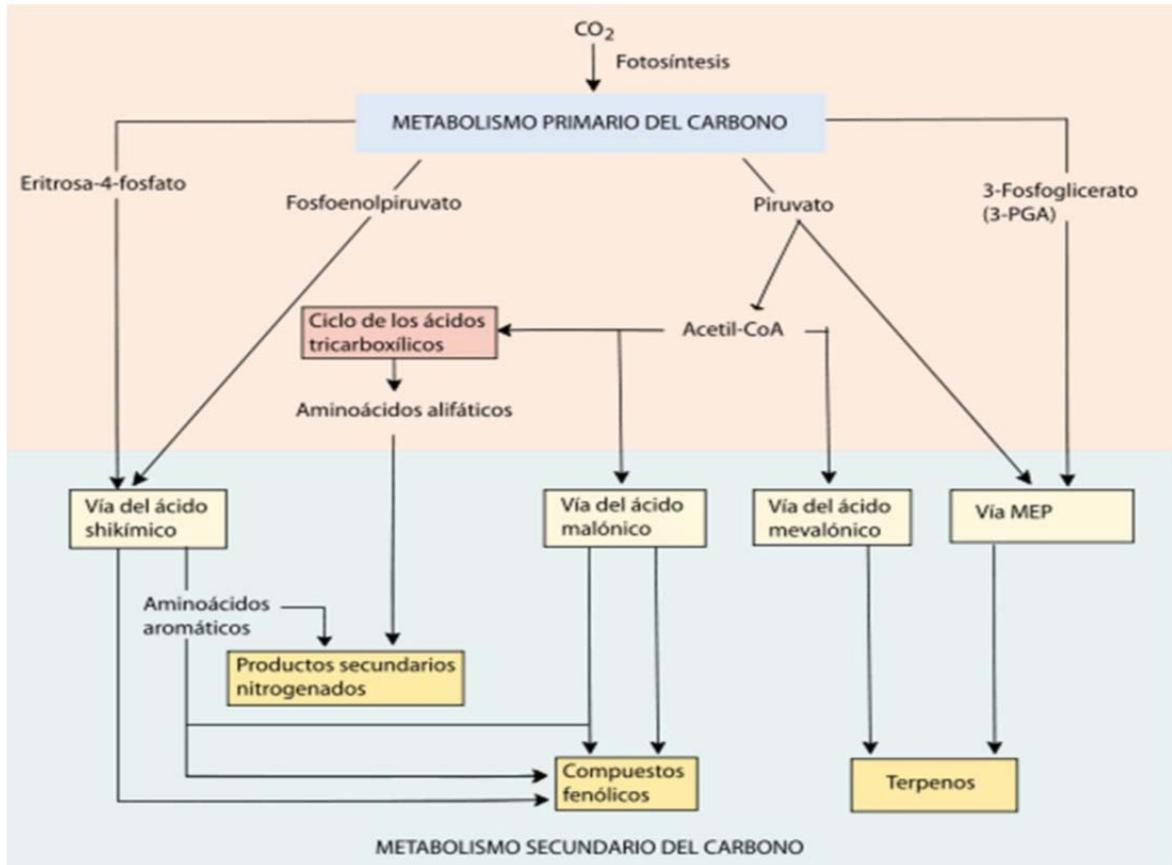


Figura 1. Esquema simplificado de las rutas de biosíntesis (Taiz, Taiz et al. 2006).

Algunos estudios han reportado en este género de planta presencia fitocompuestos como: alcaloides, terpenos, lignanos, péptidos cíclicos (tabla tomada de: (Wong-Paz, Castillo-Inungaray et al. 2010); (Can-Aké, Erosa-Rejón et al. 2004) flavonoides y fitoesteroles (Thomas, Sah et al. 2008), de la raíz se han identificado tres diterpenos, la citlaltiriona, jatrofona, y riolosatriona y un esteroles, el R-sitosterol, y también de las raíces se obtiene un aceite esencial, resina, saponinas, un alcaloide y ácido oxálico (Castillo, Aguilar et al. 2012).

METABOLITOS	PRUEBAS	EXTRACTO METANOLICO	EXTRACTO ACUOSO	DECOCCIÓN
Alcaloides	Drogen dorff	+	-	-
	Mayer	-	-	-
	Wagner	-	+	+
Triterpenos y esteroides	Salkowski	+++		+++
Quinonas	Borntra ger	-		-
	Variant e benceno	+		-
Cumarinas	Baljet	+		+
	Legal	-		-
Aceites esenciales y sustancias grasas	Papel Blanco	-	-	-
Flavonoides	H2SO4	+	+	+
	Shinoda	+	+	-
	rosemh eim	+	+	-

Saponinas	Espuma		+	+
Fenoles y taninos	Cloruro férrico	+	+	-
Poliurónidos			-	-
Recias		-		-
Mucílagos			-	-
Carbohidratos	Moliseh		+	+
Aminoácidos libres y aminoácidos en general	Ninhidrina	+		-
Azúcares reductores	Fehling	+	+	-
	Benedict	+	+	-
Principios amargos	Sabor		Amargo	Amargo

Tabla 2. Componentes de la *J. dioica* (Wong-Paz, Castillo-Inungaray et al. 2010).

Algunos autores han descritos métodos para la detección de la presencia de estos fitocompuestos, mediante extracción con solventes apropiados, usando reactivos y técnicas colorimétricas (Lock de Ugaz 2001). Dentro de los fitocompuestos más comunes descritos para la *Jatropha dioica* encontramos:

Flavonoides: son compuestos de dos anillos fenilos unidos mediante un anillo pirano, lo cual nos deja un esqueleto de difenilpiranos: C6-C3-C6, grupo aromático de pigmentos heterocíclicos que poseen oxígeno, distribuido entre las plantas, constituyendo la mayoría de los colores amarillo, rojo y azul de las plantas. Se les atribuyen propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, antitrombóticas, antialérgicas, antitumorales y antioxidantes. (Jiménez, Martínez et al. 2009). Los flavonoides se emplean como colorantes de lana y en la conservación de grasas o jugos de frutas, debido a sus propiedades antioxidantes (Lock 2006).

Taninos: son metabolitos secundarios que forman un sub-grupo de los compuestos polifenólicos y son derivados de plantas que pueden ser esterres de ácido gálico o sus derivados unidos a una amplia variedad de polioles, catequina o núcleos triterpenoides, galotaninos (GT), elagitaninos (ET) o taninos complejos, Los taninos son conocidos por su capacidad para unirse a otras macromoléculas como los hidratos de carbono y las proteínas mediante fuerzas covalentes y no covalentes y por su astringencia y sabor amargo, pero estas propiedades son dependientes del tipo de tanino (Olivas-Aguirre, Wall-Medrano et al. 2014).

Cumarinas: son lactonas del ácido o-hidróxi-cinámico ó son derivadas del ácido cinámico por ciclización de la cadena lateral del ácido o-cumárico. A las cumarinas se les atribuye una gran variedad de actividades farmacológicas, bioquímicas y terapéuticas, las cuales dependen de sus padrones de sustitución y ellos poseen isómeros naturales conocidos como cromonas (5H-1-benzopiran-5-onas). Las cumarinas son derivadas del metabolismo de fenilalanina, siendo uno de sus principales precursores el ácido-hidróxi-cinámico (ácido p-cumárico), que es hidroxilado en la posición C-2' (orto-hidroxilación). La síntesis de cumarinas puede ser inducida en respuesta a un estrés biótico o abiótico, por una deficiencia nutritiva, por mensajeros químicos como las hormonas vegetales y por otros metabolitos externos (Pérez-Portero, Rivero-González et al. 2013).

Terpenos: son sustancias amargas que se encuentran en todas las partes de las plantas, cantidades que varían de un 0.01 al 8% del peso seco. Poseen acción citotóxica, antitumoral, analgésica y bacteriostática (Lock de Ugaz 2001).

Saponinas: son glucósidos de triterpenos y esteroides, que dan soluciones jabonosas y algunos extractos de plantas se usan como detergentes. Pueden causar hemólisis de la sangre. Los azúcares más frecuentes son la glucosa, arabinosa, raminosa, galactosa y xilosa, y en los saponósidos triterpénicos también es frecuente el ácido glucurónico. Los saponósidos se caracterizan por su capacidad, cuando se agita cualquier solución acuosa que los contenga, para producir espuma. Los saponósidos tienen un elevado peso molecular y se hidrolizan mediante ácidos o, mediante enzimas, dando la genina y los diversos azúcares y ácidos urónicos. Hay que tener en cuenta que, por vía oral y en dosis altas, las saponinas irritan la mucosa bucofaríngea y digestiva, causando dolor abdominal, vómitos y diarrea (Luengo 2001).

Quinonas: las quinonas confieren a las plantas propiedades microbicidas, tripanomicidas, viruscidas, antitumorales e inhibidoras de sistemas reparadores celulares (da Silva, Ferreira et al. 2003). La quinona existe bajo la forma de prismas monoclinicos grandes y amarillentos. Los vapores tienen un olor acre e irritante. Los dos son la Orto-benzoquinona, que es la 1,2-diona, y la Para-quinona o , que es la 1,4-diona. La Parabenzoquinona es la forma oxidada de la y la orto-benzoquinona es la forma oxidada del catecol (1,2-dihidroxibenceno).

OBJETIVO GENERAL

Obtener, estandarizar y caracterizar analíticamente el extracto de la *Jatropha dioica*.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Preparar extractos de la *Jatropha dioica* con diferentes extractos, con la finalidad de obtener uno, el cual se resalte su composición fitoquímica.
- Identificar la presencia de fitocompuestos en el extracto de *Jatropha dioica*.

Reactivos y Materiales

La *Jathopa Dioica* (Sangre de Grado) se recolecto en el municipio de Ojocaliente Zacatecas y se donó por los Laboratorios DEMIR SA de CV. De Zacatecas, Zacatecas.

Los solventes metanol, etanol, isopropanol y agua de JT Baker Mailinckrodt Baker S.A. de C.V., México y los reactivos químicos generales de también J.T. Baker, S.A. de C.V. (Xalostoc, Edo. de Méx., México).

Equipo Analítica Para el análisis fitoquímico la detección fue colorimétrica, se utilizó un espectrofotómetro Beckman DU 65 para lecturas en rango ultravioleta y visible; En el procesado de los extractos se emplearán un horno Marca FELIZA, rotavapor RE-51 Hitech de Yamato, liofilizador Virtris Sp. Scientific Sentry 20, bomba de vacío.

Métodos: Obtención y Estandarización del extracto de *Jatropha dioica*.

La planta de *Jatropha dioica* (Fotografía No.1) se sometió a un proceso de secado en un horno Marca FELIZA a 40°C por 72 horas, para posteriormente pulverizar la raíz. Para poder realizar las extracciones se utilizaron como solventes metanol, etanol, isopropanol y agua. Se elaboró una proporción de 3 a 1, con respecto a la planta pulverizada, para posterior macerar, poner a reflujo y filtrar. El filtrado se condensó en rotavapor a la temperatura de ebullición del solvente. Después de condensado se llevó a secado mediante estufa eléctrica y en liofilizador marca Virtis SP Scientific Sentry 2.0

Una vez obtenidos los extractos liofilizados se les realizaron barridos espectrofotométricos y cromatografía en capa fina. Lo cual ayudo para poder de acuerdo a esto elegir como solvente el agua, ya que presento espectrofotométricamente mejor señal.



Foto no. 1. Fotografía de la raíz de planta de *Jatropha dioica*, utilizada en este trabajo.

Identificar la presencia de fitocompuestos en el extracto de *Jatropha dioica*.

Para identificar la presencia de fitocompuestos se utilizaron técnicas colorimétricas

Determinación de alcaloides: La mayoría de los alcaloides son solubles en solventes orgánicos poco polares. Para esta determinación se utilizaron puebas de precipitación en medio ácido, por ello se utilizó ioduro de potasio (reactivo de Dragen dorff), el ioduro de potasio y mercurio (reactivo de Mayer) y la sal de Reineckato de amonio.

Determinación de nafto y antraquinonas: Para la identificación de estos metabolitos se empleó la reacción de Bornträger-Kraus. El extracto seco se extrae con una solución etanólica en agua en proporción de 1:7, a la cual se le adiciona peróxido de hidrógeno y ácido sulfúrico y se somete a temperatura; en estas condiciones se hidrolizaran los enlaces glicosídicos y se oxidan las antranas y los antranoles hasta antraquinonas, las cuales posterior se extraen con tolueno en presencia de hidróxido de sodio al 5% e hidróxido de amonio al 2%. Si existieran nafto o antraquinonas, al dejar separar las fases la capa alcalina (inferior) toma una coloración que va del rosado al rojo intenso, dependiendo de la concentración de estos compuestos en la muestra.

Determinación de esteroides y Triterpenoides libres. Para esta determinación se utilizó la prueba de Liebermann-Burchard. El extracto se extrae con una mezcla de metanol – agua en proporción de 9:1, recuperando con ello la capa superior para su determinación presencial se utiliza cromatografía en capa fina, empleando gel de sílice F 254 como fase estacionaria y una fase móvil compuesta por una mezcla hexano - acetato de etilo (95:5). Una vez corrida la placa cromatografía se revelara con reactivo de Lieber -mann-Burchard (solución etanólica de anhídrido acético en presencia de ácido sulfúrico) y se sometió a calentamiento en la mufla a 110° C durante 10 min. Si se presentan manchas en tonalidades rojo, azules y verdes el resultado se considerara positivo.

Determinación de flavonoides. En esta determinación se emplea la reacción de Shinoda. El extracto seco se extrae con una solución etanólica en agua proporción de 1:7 y se filtrara. Ya filtrado se le adiciona 0.5 g de magnesio en polvo y HCl concentrado. Si se observa coloración rojiza, violeta o naranja, se considerara positiva, para compuestos con el núcleo de la γ -benzopirona (flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, isoflavonoides y xantonas).

Determinación de taninos. La prueba más empleada para la detección de este grupo de metabolitos es la que involucra al reactivo de gelatina-sal, el cual produce un precipitado blanco en presencia de taninos, luego de haber extraído el extracto etanólico total con una solución acuosa de etanol en proporción de 7:1. Los precipitados que se formen deben de ser solubles en urea 10 M y producirán una coloración verde, azul o negra al término de la adición de cloruro férrico al 10% en agua.

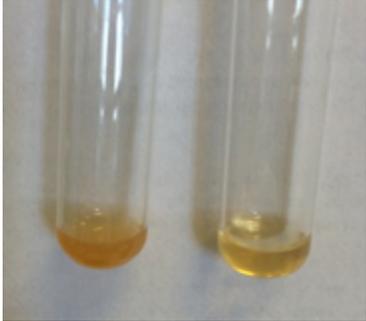
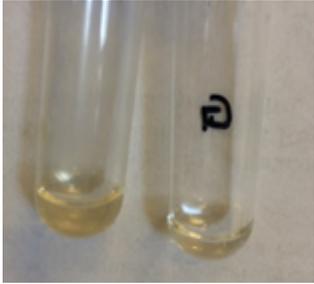
Determinación de Saponinas. Para realizar la prueba el extracto seco se extrae con solución acuosa en proporción de 7:1. La prueba de formación de espuma consiste en agitar vigorosamente la solución acuosa (7:1), obtenida del extracto total, en un tubo de ensayo y observar la espuma formada. Ésta debe ser estable por lo menos 30 minutos para poder establecer la presencia de saponinas.

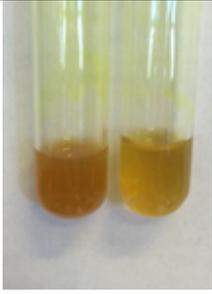
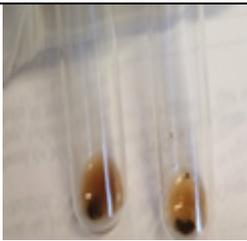
Determinación de glicósidos cardiotónicos. Estos tienen características muy semejantes a las saponinas. Se utiliza la reacción de Raymond, utilizando etanol y NaOH produciendo una coloración violeta que es espontánea.

Determinación de cumarinas. Por este motivo, con el fin de determinar la presencia de cumarinas en la muestra, se realizó cromatografía en capa fina utilizando como fase móvil una mezcla de cloroformo-cetona 9:1 como fase móvil.

Resultados y discusión

El análisis fitoquímico mostro que el extracto acuoso de la *Jatropha dioica* contienen alcaloides, cumarinas, quinonas, saponinas y flavonoides principalmente, y aunque el barrido espectrofotométrico presento solo un pico tipo joroba entre 200 y 400 nm aún falta poder evaluar más la composición de estos fitocompuestos pero ya aplicados a patologías conocidas para poder evaluar su aplicación terapéutica. Estos resultados concuerdan con Wong-Paz, Castillo-Inungaray et al. 2010 ya que en su análisis fitoquímico también se evidenciaron estos fitocompuestos.

FITOCOMPUESTO	RESULTADO	
Alcaloides	positivo	
Camarinas	positivo	
Fenoles	negativo	
Taninos	negativo	

Quinonas	positivo	
Antraquinonas	negativo	
Azúcares reductores	negativo	
Saponinas	positivas	
Flavonoides	Positivo	

La presencia de cumarinas en la especie atribuye propiedades antibacterianas y antimicrobianas según (Reyes, Casanova et al. 2014).

Si bien el análisis de fitocompuestos solo nos permite reafirmar la existencia de algunos grupos funcionales, no nos brinda información detallada de la composición del extracto pero sí la presencia de dobles y triples enlaces. El resultado era de esperarse por la influencia de los grupos en la formación de los metabolitos primario y secundarios.

En cuanto a los flavonoides la ventaja es que son los polifenoles más comunes en la dieta de los seres humanos. Estos compuestos son metabolitos secundarios de las plantas, y representa a los grupos de forma general de: flavonas, flavonoles, flavononas e isoflavonas. Algunas investigaciones recientes demostraron que los flavonoides tienen un efecto muy beneficioso para la salud, sobre todo en enfermedades crónicas degenerativas, síndrome metabólico (SM) y cáncer; también influyen sobre el sistema nervioso central y el sistema inmunitario. Se estima que el 42% de los adultos de los EE.UU. consume suplementos dietéticos y que aproximadamente el 33% de las mujeres recibe suplementos herbales en forma regular, ricos en este fitocompuesto (Bonilla, Santa María et al. 2014) atribuye la coloración, bajo las condiciones del ensayo, a la existencia de posibles flavanonas y flavonas sin 5-OH libre, responsables de los tonos celestes y azul fluorescentes; mientras que la presencia de flavonoles con un 3-OH libre y con/sin 5-OH libre representarían la coloración roja fluorescente y amarillo opaca.

Por otra parte, según autores puede ocurrir que durante el proceso de identificación de anillos aromáticos, estos no se logren identificar a pesar de su verdadera existencia, ya que se asocian por nitración o sulfonación a NO₂- o SO₃-2, respectivamente. Esto hace necesaria la aplicación de otros ensayos (Sánchez and Calle 2016).

Pero gracias a estos resultados nos ayudan a generar interrogantes para poder seguir estudiando plantas a las cuales aún no se les estudia todo su potencial terapéutico. Es necesario desarrollar programas de evaluación de actividades biológicas de plantas para evaluar los fitocompuestos presentes en las plantas.

Conclusion:

Se concluye que para este tipo de planta el solvente ideal es el agua y que el análisis colorimétrico evidencio la presencia de una variedad de fitocompuestos presentes en la ***Jatropha dioica***, revelando con ello información general acerca de su posible efecto etnofarmacológico en actividades terapéuticas.

BIBLIOGRAFIA

- Bolker, B. M., et al. (2009). "Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution." Trends in ecology & evolution **24**(3): 127-135.
- Bonilla, J. A., et al. (2014). "Efecto sedante, ansiolítico y toxicológico del extracto acuoso de flores de *Erythrina berteroana* (pito) en ratones." Revista Cubana de Plantas Medicinales **19**(4): 383-398.
- Can-Aké, R., et al. (2004). "Bioactive terpenoids from roots and leaves of *Jatropha gaumeri*." Rev Soc Quim Méx **48**: 11-14.
- Castillo, F., et al. (2012). Antifungal properties of bioactive compounds from plants, INTECH Open Access Publisher.
- da Silva, M. N., et al. (2003). "Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na Beta-Lapachona e derivados." Química Nova **26**(3): 407-416.
- Flores, J. and E. Jurado (2003). "Are nurse-protégé interactions more common among plants from arid environments?" Journal of Vegetation Science **14**(6): 911-916.
- Gnecco, S., et al. (2011). "Distribución de n-alcanos en especies chilenas pertenecientes a la familia Euphorbiaceae."
- Guerrero-Rodríguez, E., et al. (2007). "Actividad Biológica in vitro de Extractos de *Flourensia cernua* DC en Patógenos de Postcosecha: *Alternaria alternata* (Fr.: Fr.) Keissl., *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. y *Penicillium digitatum* (Pers.: Fr.) Sacc." Revista mexicana de Fitopatología **25**(1): 48-53.
- Il, A. (2003). "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II." Botanical Journal of the Linnean Society **141**(4): 399-436.
- Jiménez, C. I. E., et al. (2009). "Flavonoides y sus acciones antioxidantes." Rev Fac Med UNAM **52**(2): 73-75.
- Lock de Ugaz, O. (2001). "Análisis fitoquímico y metabolitos secundarios." Capítulo IV. Manual de fitoterapia. EsSalud/OPS.
- Lock, O. (2006). Análisis fitoquímico y metabolitos secundarios, Pontificia Universidad Católica del Perú.[serie en Internet]. Disponible en: <http://www.macaperuana.com/analisis.htm>.

- Luengo, M. T. L. (2001). "Fitoterapia: Saponósidos." Offarm: farmacia y sociedad **20**(6): 124-128.
- Martínez-Ávalos, J. (1998). Determinación del estado actual de cinco especies de cactáceas amenazadas del estado de Tamaulipas, México, CONABIO (Informe Proyecto= H149).
- Martínez Gordillo, M., et al. (2002). "Los generos de la familia Euphorbiaceae en Mexico.(The genera of Euphorbiaceae in Mexico.)." An. Inst. Biol. Univ. Nac. Auton. Mex., Bot **73**(2): 155-281.
- Martínez, M. and E. Matuda Matuda (1979). Flora del estado de México.
- Olivas-Aguirre, F. J., et al. (2014). "Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud." Nutrición Hospitalaria **31**(n01): 55-66.
- Pérez-Portero, Y., et al. (2013). "Caracterización fitoquímica de extractos de Spondias mombin L.(Anacardiaceae)." Revista Cubana de Química **25**(2): 150-153.
- Radcliffe-Smith, A. and H.-J. Esser (2001). Genera euphorbiacearum, Royal Botanic Gardens, Kew.
- Ramírez, J. J., et al. "Los géneros de la familia Euphorbiaceae en México (parte D)."
- Reyes, S. R., et al. (2014). "Capacidad antioxidante in vitro de los flavonoides totales obtenidos de las hojas de Sambucus peruviana HBK (sauco) proveniente de la ciudad de Huamachuco." PHARMACIENCIA **1**(2): 57-64.
- Rivera García, E. (2006). "An annotated checklist of some orthopteroid insects of Mapimi Biosphere Reserve (Chihuahuan desert), Mexico." Acta zoológica mexicana **22**(3): 131-149.
- Romeu Carballo, C. R., et al. (2012). "Caracterización fitoquímica del aceite esencial de romero (Rosmarinus officinalis L.) y evaluación in vitro de su actividad acaricida." FITOSANIDAD **11**(2): 75-78.
- Sánchez, A. V. B. and W. D. A. Calle (2016). "Evaluación fitoquímica y determinación de flavonoides en hojas de Ficus benjamina L." Xilema **28**(1): 61-67.
- Silva-Belmares, Y., et al. (2014). "Antimicrobial and cytotoxic activities from Jatropha dioica roots." Pakistan Journal of Biological Sciences **17**(5): 748.
- Smith, A. R. and S. Carter (1987). Euphorbiaceae, Balkema.
- Sosa, M., et al. (2006). "Clasificación de las comunidades vegetales en la Región Árida del Estado de Chihuahua, México." Ecología Aplicada **5**(1-2): 53-59.
- Taiz, L., et al. (2006). Fisiología vegetal/Plant physiology, Universitat Jaume I.
- Thomas, R., et al. (2008). "Therapeutic biology of Jatropha curcas: a mini review." Current Pharmaceutical Biotechnology **9**(4): 315-324.
- Webster, G. L. (1994). "Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae." Annals of the Missouri Botanical Garden: 33-144.
- Wong-Paz, J. E., et al. (2010). "Jatropha dioica: Fuente potencial de agentes antimicrobianos. 2." Revista Científica **2**(4).
- Zolla, C. and A. Argueta (2009). "Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana." Medicina tradicional mexicana.



- (Tomado de <http://ecoosfera.com/2015/10/la-medicina-alternativa-es-parte-de-la-tradicion-mexicana-piensa-el-84/>. Disponible 03 de octubre del 2016. 13:00 pm).
- A. Rocha-Estrada, M.A. Alvarado Vázquez y S.C. Martínez Puente. 2012. El Valor de Nuestras Plantas. Sangre de Drago (*Jatropha dioica* Cerv). Revista PLANTA de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Año 7, No. 14. Pag 27 y 28)
- Federación, D.O.d.I. Plan de Desarrollo Estatal. [cited 8 de Agosto de 2010; Tomado de: http://copladet.tamaulipas.gob.mx/planes_mpales_08/bustamante.pdf.
- INEGI. Carta de Uso del Suelo y Vegetación, 1:1 000 000. 2011; Tomado de: www.inegi.org.mx.
- Martínez, M., Las plantas medicinales de Mexico. 2004: Librería y Ediciones Botas; Domínguez Oropeza, I., Estudio etnobotánico de plantas medicinales de Tunititlan, Hgo. y evolución antibacteriana de la especie vegetal más empleada en el tratamiento de enfermedades de etiología infecciosa, in Licenciatura En Biología Experimental, Universidad Autónoma Metropolitana. p. 46-47).