

# **Evaluación de la actividad antitopoisomerasa de extractos acuosos de semilla de *Pithecellobium dulce* obtenidos mediante extracción asistida por ultrasonido**

Evaluation of the antitopoisomerase activity of aqueous seed extracts of sweet *Pithecellobium* obtained by ultrasound-assisted extraction

**Gladys América Prado-Guzmán<sup>1</sup>, Herenia Adilene Miramontes-Escobar<sup>2</sup>, Víctor Manuel Zamora-Gasga<sup>1</sup>, Alejandro Pérez-Larios<sup>2</sup>, Jorge Alberto Sánchez-Burgos<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup> Instituto Tecnológico de Tepic, Laboratorio Integral de Investigación en Alimentos, División de Estudios de Posgrado, Av. Instituto Tecnológico No 2595, Col Lagos del Country C.P. 63175, Tepic, Nayarit Mexico.

<sup>2</sup> Nanocatalysis Research Laboratory, Department of Engineering, Centro Universitario de los Altos, University of Guadalajara, Tapatitlán de Morelos, Mexico.

\*Correspondencia: Correo electrónico: [jsanchezb@ittec.edu.mx](mailto:jsanchezb@ittec.edu.mx) (Jorge Alberto Sánchez-Burgos)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v19iEspecial.2087>

Recibido: 19 de septiembre de 2025; Aceptado: 19 de noviembre de 2025

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Editor de Sección: Dr. José Rafael Minjares-Fuentes

## **Resumen**

En este estudio se optimizó la extracción asistida por ultrasonido (EAU) en semillas de *Pithecellobium dulce*, evaluando el efecto de tiempo (5–15 min), amplitud (50–100 %) y ciclo de pulso (0.25–1 s) mediante un diseño factorial fraccionado  $3^{3-1}$  y análisis de superficie de respuesta. Las variables de respuesta fueron fenoles solubles totales (FST) y capacidad antioxidante (ABTS, DPPH y FRAP). Las condiciones óptimas (10 min, 100 % amplitud, 0.625 s ciclo) generaron un extracto con alto contenido fenólico y la mayor capacidad antioxidante. Este extracto optimizado fue evaluado en un modelo de *Saccharomyces cerevisiae* genéticamente modificado para determinar su actividad antitopoisomerasa. Los resultados mostraron una inhibición global del 51 % y un efecto específico del 21 % sobre la topoisomerasa tipo II, sin presentar citotoxicidad en cepas con mecanismos de reparación intactos. Estos hallazgos constituyen la primera evidencia de actividad antitopoisomerasa en semillas de *P. dulce* y sugieren que este subproducto representa una fuente prometedora de compuestos bioactivos

con potencial aplicación en las industrias nutraceutica y farmaceutica, además de contribuir a la valorización de residuos agroindustriales mediante procesos sostenibles.

**Palabras clave:** *Pithecellobium*, gestión de residuos, ultrasonido, antioxidante, antitopoisomerasa.

## Abstract

This study optimized ultrasound-assisted extraction (UAE) from *Pithecellobium dulce* seeds by evaluating the effect of sonication time (5–15 min), amplitude (50–100 %), and pulse cycle (0.25–1 s) using a  $3^{3-1}$  fractional factorial design coupled with response surface analysis. Response variables included total soluble phenolics (TSP) and antioxidant capacity (ABTS, DPPH, and FRAP). Optimal conditions (10 min, 100 % amplitude, 0.625 s cycle) yielded an extract with high phenolic content and the greatest antioxidant activity. The optimized extract was further tested in a genetically modified *Saccharomyces cerevisiae* model to assess antitopoisomerase activity. Results showed an overall inhibition of 51 % and a specific effect of 21 % against type II topoisomerase, without cytotoxicity in strains with intact DNA repair mechanisms. These findings provide the first evidence of antitopoisomerase activity in *P. dulce* seeds and suggest that this underutilized byproduct represents a promising source of bioactive compounds. Its potential applications in nutraceutical and pharmaceutical industries, combined with its role in agro-industrial waste valorization through sustainable processes, highlight the relevance of UAE as an efficient tool for obtaining functional extracts.

**Keywords:** *Pithecellobium*, waste management, ultrasound, antioxidant, antitopoisomerase.

## 1. Introducción

En las últimas décadas, el estudio de compuestos bioactivos (CB) presentes en matrices vegetales ha cobrado gran relevancia debido a su capacidad para modular procesos fisiológicos y prevenir diversas enfermedades crónicas no transmisibles como la diabetes, enfermedades cardiovasculares, cáncer, y procesos neurodegenerativos (Barba et al., 2016). Estos compuestos –polifenoles, flavonoides, alcaloides y terpenoides, entre otros– se encuentran tanto en partes comestibles como en subproductos agroindustriales, tales como cáscaras, semillas y bagazos, los cuales representan una fuente rica y poco explorada de CB (Szabo et al., 2022; Hernández-Montesinos et al., 2024). Su aprovechamiento contribuye no solo al desarrollo de ingredientes funcionales, sino también a la valorización de residuos, bajo los principios de economía circular y sustentabilidad.

En este contexto, *Pithecellobium dulce* (Guamúchil), una leguminosa ampliamente distribuida en regiones tropicales y subtropicales, ha sido objeto de interés debido a su perfil fitoquímico. Aunque el consumo tradicional se centra en la pulpa, diversos estudios han reportado que hojas, corteza y semillas poseen propiedades medicinales y farmacológicas con actividades antibacteriana, antifúngica, antiinflamatoria, hepatoprotectora y antidiabética (Kulkarni et al., 2018; Kumar et al., 2022; Hameed et al., 2024). Además, en la medicina tradicional se utiliza para tratar afecciones gastrointestinales, fiebre y enfermedades cutáneas (Sneha et al., 2020). Particularmente, las semillas de guamúchil han mostrado efectos antioxidantes, antihiper glucémicos y antihiperlipidémicos en modelos animales, lo que sugiere un potencial para el desarrollo de productos nutraceuticos y

farmacológicos (Nagmoti et al., 2015). Sin embargo, la mayoría de los estudios emplean métodos de extracción convencionales que requieren solventes orgánicos, altas temperaturas y tiempos prolongados, lo cual puede comprometer la estabilidad y actividad de los CB. En este sentido, las tecnologías emergentes como la extracción asistida por ultrasonido (EAU), han demostrado ser alternativas viables y sostenibles para la obtención de compuestos bioactivos de matrices vegetales. Esta técnica basada en la cavitación acústica promueve la disrupción celular y la liberación eficiente de metabolitos, reduciendo tiempo, energía y solventes, y preservando compuestos termolábiles (Borthwick et al., 2005; Zhou et al., 2012).

Más allá de la actividad antioxidante e inflamatoria, existe interés creciente por explorar mecanismos biológicos adicionales de los compuestos vegetales. Una de estas rutas es la inhibición de topoisomerasas, enzimas clave involucradas en la replicación y transcripción del ADN. La inhibición de estas enzimas, particularmente las topoisomerasas I y II, ha sido identificada como una estrategia importante en el desarrollo de agentes antitumorales (Momin y Nair, 2002; Zeng et al., 2024). La evaluación de la actividad antitopoisomerasa de extractos vegetales representa así, una vía prometedora para la identificación de nuevos candidatos bioactivos con potencial aplicación farmacológica.

Con base en lo anterior, el objetivo del presente estudio fue optimizar las condiciones de extracción asistida por ultrasonido de semillas de *P. dulce* y evaluar su capacidad antioxidante (ABTS, DPPH y FRAP), así como su posible actividad antitopoisomerasa, a fin de determinar su potencial uso como fuente de compuestos funcionales aplicables en las industrias alimentaria, nutracéutica y farmacéutica.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1 Preparación de la muestra

Se utilizaron semillas de frutos de *Pithecellobium dulce* en madurez de consumo, adquiridos en un mercado local de la ciudad de Tepic, Nayarit, México. Las semillas fueron separadas manualmente del fruto y se secaron a temperatura ambiente (25 °C) durante 5 días bajo sombra, la humedad inicial fue del 37 % y dejó secar hasta alcanzar una humedad del 4.55 %. Una vez secas, las semillas se molieron (IKA modelo MF-20, Alemania) hasta llegar a un tamaño de partícula de 600 micras y fueron almacenadas en bolsas de cierre hermético a 25 °C para su posterior análisis.

### 2.2 Diseño experimental para la extracción de compuestos bioactivos

Para optimizar las condiciones de extracción asistida por ultrasonido (EAU), se aplicó un diseño factorial fraccionado  $3^{3-1}$ , considerando como factores: tiempo (5, 10, 15 min), amplitud (50, 75, 100 %) y ciclo (0.25, 0.5, 1 s). Se obtuvieron nueve tratamientos por triplicado. Las variables de respuesta fueron FST y CAO (ABTS, DPPH, FRAP).

**Tabla 1.** Diseño experimental fraccionado  $3^{3-1}$  de muestras con extracción asistida por ultrasonido.

**Table 1.** Fractional  $3^{3-1}$  experimental design of samples with ultrasound-assisted extraction.

| Tratamiento (T) | Tiempo (min) | Amplitud (%) | Ciclo (s) |
|-----------------|--------------|--------------|-----------|
| T1              | 10           | 100          | 0.25      |
| T2              | 5            | 100          | 0.5       |
| T3              | 15           | 50           | 0.5       |
| T4              | 10           | 50           | 1         |
| T5              | 5            | 50           | 0.25      |
| T6              | 15           | 75           | 0.25      |
| T7              | 15           | 100          | 1         |
| T8              | 10           | 75           | 0.5       |
| T9              | 5            | 75           | 1         |

## 2.3 Extracción de compuestos bioactivos

Se realizó una extracción acuosa (relación 1:10, p/v) en tubos de polipropileno de 50 mL. Tras agitación magnética por 5 min, las muestras se sometieron a ultrasonido en un equipo UP400S (Hielscher Ultrasonics GmbH, Alemania; 400 W, 24 kHz) con sonotrodo de acero inoxidable modelo H22L2D. La temperatura se controló a  $20 \pm 3$  °C mediante baño de recirculación (Martínez-Olivo et al., 2023). Se evaluó como semilla control (SC) una muestra sin tratamiento ultrasónico la cual fue sometida a agitación magnética durante 5 min.

Los extractos fueron centrifugados a 6000 rpm por 10 min a 4 °C, y el sobrenadante se recuperó. Los residuos sólidos se lavaron dos veces y se centrifugaron nuevamente. Los extractos combinados se congelaron a -80 °C, liofilizaron (Labconco FreeZone 6, Kansas City, MO, USA) y almacenaron a temperatura ambiente hasta su análisis.

## 2.4 Análisis proximal y características fisicoquímicas de semillas de *Pithecellobium dulce* Neutralización del radical ABTS<sup>•+</sup>

El contenido de humedad (934.06), cenizas (940.26), lípidos (950.54) y proteínas (984.13) se determinó siguiendo métodos de la AOAC (2005). Los carbohidratos solubles se cuantificaron mediante el método fenol-sulfúrico (Dubois et al., 1956). La lectura de absorbancia se realizó a 480 nm en un espectrofotómetro UV-Vis, utilizando una curva estándar de glucosa (10–100 mg/mL).

La fibra dietética total (FDT), soluble (FDS) e insoluble (FDI) se determinó mediante el método enzimático-gravimétrico de la AOAC (2005, 991.42), modificado por Saura-Calixto et al. (2000). Tras la digestión enzimática con pepsina (pH 1.58) y  $\alpha$ -amilasa (pH 6.9), las muestras fueron

centrifugadas. El residuo seco correspondió a la FDI. El sobrenadante se sometió a diálisis y posterior hidrólisis ácida; la FDS se cuantificó con ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) como reactivo colorimétrico, leyendo la absorbancia a 530 nm. La FDT se calculó con la ecuación:

$$FDT = FDS + FDI \quad \text{Ec. (1)}$$

Dónde, FDT es la Fibra dietética total, FDS es Fibra dietética soluble y FDI es Fibra dietética insoluble. Los resultados fueron expresados como g de glucosa/100 g de base seca.

## 2.5 Contenido de fenoles solubles totales (FST)

El contenido de fenoles solubles totales (FST) se determinó mediante el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, el cual se basa en la reducción del reactivo fosfomolibdato-fosfotungstato por compuestos fenólicos, generando una coloración azul proporcional a su concentración. Se siguió la metodología propuesta por Montreau (1972) con algunas modificaciones (Alvarez-Parrilla et al., 2011), empleando el reactivo de Folin-Ciocalteu. La absorbancia se midió a 750 nm en un lector de microplaca (Biotek, Synergy HT, Winooski VT, USA), utilizando el programa Gen5. Los resultados fueron expresados en equivalentes de ácido gálico por g de extracto en base seca (mg EAG/g bs), usando una curva estándar de ácido gálico (0–0.2 mg/mL).

## 2.6 Determinación de capacidad antioxidante (CAOX)

Los ensayos ABTS, DPPH y FRAP se emplearon de manera complementaria para evaluar la capacidad antioxidante de los extractos. Mientras que ABTS y DPPH se basan en la neutralización de radicales libres mediante transferencia de hidrógeno y de electrones, respectivamente, el ensayo FRAP determina la capacidad reductora del hierro ( $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$ ), reflejando el potencial reductor global del sistema. La inclusión de los tres métodos permite obtener una visión más completa de los diferentes mecanismos de acción antioxidante presentes en los extractos.

### Neutralización del radical ABTS<sup>•+</sup>

La actividad antirradical se determinó utilizando la metodología descrita por (Re et al., 1999), con algunas modificaciones. Se preparó una solución del radical ABTS<sup>•+</sup> y se diluyó con tampón fosfato hasta alcanzar una absorbancia de  $0.70 \pm 0.01$  a 734 nm, medida en un lector de microplacas (Biotek, Synergy HT, Winooski VT, USA). Posteriormente, se mezclaron 20  $\mu\text{L}$  del extracto (disuelto en metanol/agua acidificada, 1 mg/mL) con 255  $\mu\text{L}$  de la solución de ABTS<sup>•+</sup>, incubándose a 30 °C durante 7 min. La disminución de la absorbancia se comparó con una curva estándar de Trolox (37.5–600  $\mu\text{M}$ ), y los resultados se expresaron como equivalentes de Trolox (mmol ET/g de extracto en base seca).

## Método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

Se siguió el método de Prior et al. (2005) con algunas modificaciones. Se preparó una solución madre disolviendo 49.29 mg de DPPH en 25 mL de metanol, la cual fue almacenada a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. La solución de trabajo se preparó a una concentración final de  $190\text{ }\mu\text{M}$  en metanol. En un lector de microplacas de detección múltiple (Biotek, Synergy HT, Winooski VT, USA), se mezclaron  $20\text{ }\mu\text{L}$  de muestra (en solución metanol/agua acidificada,  $1\text{ mg/mL}$ ) con  $200\text{ }\mu\text{L}$  de la solución de DPPH, y la reacción se incubó durante 10 min antes de medir la absorbancia a  $517\text{ nm}$  utilizando el software Gen5. Se utilizó una curva estándar de Trolox ( $37.5$  a  $600\text{ }\mu\text{M}$ ), y los resultados se expresaron como equivalentes de Trolox (mmol ET/g de extracto base seca).

## Capacidad de Reducción de Hierro Férrico en Plasma (FRAP)

Para la determinación de actividad reductora, se siguió el método propuesto por Alvarez-Parrilla et al. (2011). La solución reactiva se preparó mezclando 25 mL de tampón de acetato ( $0.4\text{ M}$ , pH 3.6), 2.5 mL de una solución de TPTZ ( $10\text{ mM}$  en HCl  $40\text{ mM}$ ) y 2.5 mL de una solución de  $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ( $20\text{ mM}$ ). La mezcla se incubó a  $37^{\circ}\text{C}$  y se colocaron  $24\text{ }\mu\text{L}$  del extracto (disuelto en metanol/agua acidificada,  $1\text{ mg/mL}$ ) y  $180\text{ }\mu\text{L}$  del reactivo FRAP en cada pocillo de una microplaca. Después de 30 min de incubación a temperatura constante, se midió la absorbancia a  $595\text{ nm}$  en un lector de microplacas (Biotek, Synergy HT, Winooski VT, USA), utilizando el software Gen5. La actividad reductora se determinó mediante una curva estándar de Trolox ( $8.125\text{ }\mu\text{M}$  –  $130\text{ }\mu\text{M}$ ), y los resultados se expresaron como equivalentes de Trolox (mmol ET/g de extracto en base seca).

## 2.7 Ensayo antitopoisomerasa

El ensayo se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Jensen et al. (2000), con algunas modificaciones. Se utilizó *Saccharomyces cerevisiae* como modelo para evaluar la inhibición de la proliferación celular inducida por topoisomerasa I. Las cepas genéticamente modificadas JN394, JN394t-1 y JN362a fueron reactivadas en medio líquido YPD (extracto de levadura, peptona y dextrosa) e incubadas en un agitador orbital a  $30^{\circ}\text{C}$  y  $50\text{ rpm}$  durante 12 h. Posteriormente, se realizó el conteo de células viables mediante cámara de Neubauer y se ajustó la concentración a  $2 \times 10^6$  células/mL.

Para los tratamientos, se colocaron 3 mL del cultivo celular (conteniendo  $6 \times 10^6$  células) en tubos de ensayo, y se añadieron  $50\text{ }\mu\text{L}$  de cada uno de los siguientes tratamientos: (i) extracto optimizado disuelto en dimetilsulfóxido (DMSO), (ii) control positivo (camptotecina, inhibidor específico de topoisomerasa I), y (iii) control negativo (DMSO únicamente, como disolvente). Las mezclas se incubaron en un agitador orbital a  $30^{\circ}\text{C}$  y  $150\text{ rpm}$  durante 24 h. Transcurrido el tiempo de incubación, se realizaron diluciones seriadas de cada tratamiento y se inocularon  $100\text{ }\mu\text{L}$  sobre cajas de Petri con medio sólido YPDA. Tras la incubación, se cuantificó el crecimiento celular, y los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición, considerando el crecimiento en el control negativo como el 100 %.

## 2.8 Análisis estadístico

Los datos obtenidos a partir de un diseño factorial fraccionado  $3^{3-1}$ , que consistió en 9 tratamientos y consideró como variables independientes el tiempo, la amplitud y el ciclo de extracción, fueron analizados mediante el software STATISTICA, versión 10 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, EE. UU.). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado, y los resultados se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar ( $n=3$ ) para cada tratamiento. Las diferencias significativas entre tratamientos fueron evaluadas mediante análisis de varianza de dos vías (ANOVA), seguido de una prueba post hoc LSD de Fisher, considerando un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ . Con base en los datos experimentales, se llevó a cabo un análisis de superficie de respuesta (ASR) para determinar las condiciones óptimas de extracción en función de cada variable de respuesta. La variable empleada para optimizar el proceso fue aquella que mostró el mejor ajuste estadístico ( $R^2 > 0.95$ ) en el modelo de superficie, evaluando además la significancia del modelo global con un valor de  $\alpha = 0.05$ .

## 3. Resultados y discusión

### 3.1 Caracterización de extractos acuosos de semillas sin tratamiento por EAU

#### Análisis proximal

Los resultados del análisis proximal indicaron que los carbohidratos y los lípidos constituyen los principales componentes de las semillas de *Pithecellobium dulce* (Tabla 2). El contenido lipídico obtenido fue superior al reportado en otras leguminosas comestibles, como frijol negro (1.50 %), garbanzo (5.18 %) y lenteja (0.98 %) (Silva-Cristobal et al., 2010). Este hallazgo sugiere que las semillas de *P. dulce* podrían considerarse una fuente relevante de compuestos lipofílicos —por ejemplo, ácidos grasos insaturados (oleico y linoleico) y triterpenoides como oleanólico—, los cuales poseen reconocidos efectos nutracéuticos tales como actividad antioxidante, hipocolesterolémica y antiinflamatoria (Monroy et al., 2004; Aldarhami et al., 2023).

En relación con la fibra dietética total (15 %), se observó una predominancia de la fracción insoluble ( $12.01 \pm 0.44$  %). Aunque la información específica sobre el contenido de FDI y FDS en semillas de *P. dulce* es escasa, se ha reportado de manera general que la especie presenta fibra dietética total del 7 % (Dhanisha et al. 2021). Resultados en harina de fruto muestran igualmente una mayor proporción de fibra insoluble respecto a la soluble (Kavita et al., 2023). Este comportamiento coincide con lo descrito en otras semillas, como *Salvia hispanica* L., donde la fracción insoluble constituye la mayor parte de la fibra dietética total (Muñoz et al., 2013). En conjunto, el alto contenido de FDI en las semillas de *P. dulce* sugiere que una fracción importante de sus componentes estructurales podría resistir la digestión en el tracto gastrointestinal superior y alcanzar el colon, donde serían fermentados por la microbiota intestinal, reforzando su potencial funcional.

**Tabla 2.** Composición proximal de semillas de *P. dulce*.**Table 2.** Proximate composition of *P. dulce* seeds.

| Parámetro              | Contenido (%) |
|------------------------|---------------|
| Humedad                | 4.55 ± 1.02   |
| Cenizas                | 3.35 ± 0.06   |
| Carbohidratos solubles | 10.57 ± 0.69  |
| Lípidos                | 10.16 ± 0.04  |
| Proteína               | 55.91 ± 2.68  |
| FDS                    | 3.45 ± 0.29   |
| FDI                    | 12.01 ± 0.44  |
| FDT                    | 15.46 ± 0.15  |

\*Media ± desviación estándar, n=3. Los resultados se expresan en base a peso seco. FDS: fibra dietética soluble, FDI: fibra dietética insoluble, FDT: fibra dietética total.

### 3.2 Semillas de *Pithecellobium* tratadas mediante EAU

#### Extracción de CB, determinación de FST, ABTS, DPPH y FRAP

Los resultados obtenidos en este estudio demostraron que la extracción asistida por ultrasonido tuvo un efecto significativo en la liberación de compuestos fenólicos y en la mejora de la capacidad antioxidante de las semillas de *P. dulce* (Tabla 3). En comparación con la semilla control (SC) (muestra sin tratamiento ultrasónico), los tratamientos con ultrasonido (T1–T9) mostraron incrementos notables en todos los métodos de evaluación antioxidante (ABTS, DPPH y FRAP), así como en el contenido de compuestos fenólicos, lo cual concuerda con estudios previos que han reportado la eficiencia del ultrasonido como una técnica de intensificación en la extracción de metabolitos bioactivos de matrices vegetales (Teixeira, 2023; Özdemir et al., 2025).

La semilla de guamúchil control (SC) presentó la menor concentración de fenoles solubles totales ( $3 \times 10^{-3} \pm 8 \times 10^{-4}$  mg EAG/g) en comparación a los tratamientos con extracción asistida por ultrasonido, con mayor actividad antioxidante en el ensayo ABTS ( $47.53 \pm 3.95$  mmol ET/g), el cual denota la capacidad de los compuestos para inhibir la formación de radicales libres. Por otra parte, se presentan en menor predominancia los compuestos con actividad reductora (FRAP) ( $3.7 \pm 0.93$  mmol ET/g) seguido de aquellos con actividad de inhibición de radicales libres ya formados (DPPH) ( $2.29 \pm 2.62$  mmol ET/g).

Los resultados del método ABTS evidenciaron un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en la capacidad antioxidante de todos los tratamientos con ultrasonido en comparación con la semilla control ( $47.53 \pm 3.95$  mmol ET/g). El tratamiento T2, con un tiempo de exposición de 5 min, presentó la mayor capacidad antioxidante ( $6572.84 \pm 35.05$  mmol ET/g), seguido de T5 ( $6057.81 \pm 36.21$  mmol ET/g) y T1 ( $3614.06 \pm 371.57$  mmol ET/g), lo que representa un aumento de hasta 138 veces respecto al control.

En contraste, el tratamiento T6, con un tiempo de exposición de 15 min, mostró el valor más bajo entre los tratamientos con ultrasonido (1070.96 mmol ET/g), aunque aun significativamente superior al control. Estos resultados sugieren que tiempos de exposición prolongados pueden reducir la efectividad de los compuestos bioactivos en su capacidad para neutralizar el radical ABTS. La alta capacidad antioxidante observada bajo tiempos cortos y amplitudes moderadas sugiere que las condiciones aplicadas fueron efectivas para inducir cavitación acústica, promoviendo la ruptura de estructuras celulares y facilitando la liberación de antioxidantes hidrosolubles (Contreras-López et al., 2020; Zhong et al., 2022).

En el ensayo DPPH, todos los tratamientos con ultrasonido mostraron una mejora significativa en la capacidad secuestradora de radicales libres respecto al control. El tratamiento T7, con las condiciones más intensas de extracción (15 min, 100 % de amplitud, ciclo de 1 s), presentó la mayor actividad ( $341.53 \pm 8.42$  mmol ET/g). Aunque no se observaron diferencias estadísticas entre el resto de los tratamientos (T1–T6, T8, T9), todos alcanzaron valores al menos 112 veces superiores al control ( $2.29 \pm 2.62$  mmol ET/g), lo que evidencia la efectividad general del ultrasonido en la liberación de compuestos con capacidad antioxidante tipo donador de hidrógeno (Okeke et al., 2025; Pereira et al., 2025).

La capacidad antioxidante medida mediante el método FRAP también se vio favorecida por la aplicación del ultrasonido. El tratamiento que mostró mayor actividad reductora fue ( $20.23 \pm 0.35$  mmol ET/g) en condiciones de extracción de 5 min, 71 % y 1 s, mientras que el tratamiento de menor actividad fue T3 ( $2.64$  mmol ET/g) bajo condiciones de 15 min, 50 % y 0.5 s. En todos los casos, los valores fueron significativamente superiores al control ( $3.70 \pm 0.93$  mmol ET/g). De acuerdo con lo observado, el tratamiento que presentó mayor capacidad antioxidante requirió tiempos de ultrasonido más cortos (5 min) que aquel que mostró valores inferiores con tiempos más largos (15 min). Por ello, al igual que en el ensayo de ABTS, el tiempo de exposición es el factor que ejerce un mayor efecto sobre la capacidad antioxidante de los compuestos liberados, lo cual fue corroborado con un análisis de varianza de 2 vías ( $p < 0.05$ ). Así mismo, se observó estadísticamente que la interacción de los factores tiempo-amplitud ejerce un mayor efecto significativo (promueven una mayor liberación) sobre la capacidad antioxidante. Con tiempos inferiores a 10 min y amplitudes no mayores al 50 % es posible obtener compuestos que preserven su capacidad reductora y su capacidad de inhibir la formación de radicales libres (Chemat et al., 2017).

Los resultados mostraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el contenido de fenoles solubles totales (FST) entre los tratamientos evaluados. El tratamiento T1 (10 min, 100 % de amplitud, 0.25 s de ciclo) presentó el mayor contenido fenólico ( $18.79$  mg EAG/g), mientras que el menor valor se registró en T5 (5 min, 50 %, 0.25 s), con  $9.38$  mg EAG/g. El análisis de varianza bifactorial indicó que el tiempo de exposición y la amplitud son los principales factores que influyen en la eficiencia de extracción, observándose una mayor liberación de compuestos fenólicos a mayor tiempo y amplitud de ultrasonido. Por otro lado, los tratamientos T4 (10 min, 50 %, 1 s) y T5 (5 min, 50 %, 0.25 s) mostraron valores similares, lo que sugiere que el uso de ciclos largos (1 s) puede afectar negativamente la extracción, probablemente debido a una menor cavitación efectiva. Estos resultados coinciden con lo reportado por Da Porto et al. (2015), quienes observaron una mayor extracción de compuestos fenólicos a partir de semillas de uva sometidas a extracción asistida por ultrasonido (EAU) con tiempos prolongados ( $\geq 15$  min) y alta potencia (150 W). No obstante, se ha señalado que condiciones intensas también pueden inducir la degradación de algunos compuestos bioactivos

(Kidak y Ince, 2006), lo que podría explicar la menor actividad antioxidante observada en ciertos tratamientos, a pesar del alto contenido fenólico.

**Tabla 3.** Capacidad antioxidante y contenido de fenoles solubles totales (FST) de los extractos sometidos a las diversas condiciones de asistencia ultrasónica.

**Table 3.** Antioxidant capacity and total soluble phenolic content (FST) of the extracts subjected to the different ultrasound-assisted conditions.

| TRATAMIENTO | ABTS mmol ET/g                 | DPPH mmol ET/g             | FRAP mmol ET/g            | FST mg EAG/g              |
|-------------|--------------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| SC*         | 47.53 ± 3.95 <sup>a</sup>      | 2.29 ± 2.62 <sup>a</sup>   | 3.70 ± 0.93 <sup>a</sup>  | 0.003 ± 0.01 <sup>a</sup> |
| T1          | 3614.06 ± 371.57 <sup>e</sup>  | 270.74 ± 8.50 <sup>b</sup> | 7.49 ± 0.59 <sup>c</sup>  | 18.79 ± 0.21 <sup>h</sup> |
| T2          | 6572.84 ± 35.05 <sup>h</sup>   | 286.35 ± 0.41 <sup>b</sup> | 12.75 ± 1.72 <sup>d</sup> | 14.29 ± 0.03 <sup>c</sup> |
| T3          | 3145.32 ± 31.75 <sup>ce</sup>  | 282.38 ± 1.46 <sup>b</sup> | 2.64 ± 0.74 <sup>a</sup>  | 16.27 ± 0.03 <sup>g</sup> |
| T4          | 3245.01 ± 4.11 <sup>de</sup>   | 302.05 ± 9.12 <sup>b</sup> | 12.66 ± 3.77 <sup>d</sup> | 9.70 ± 0.31 <sup>b</sup>  |
| T5          | 6057.81 ± 36.21 <sup>g</sup>   | 271.91 ± 4.19 <sup>b</sup> | 4.59 ± 1.13 <sup>bc</sup> | 9.38 ± 0.20 <sup>b</sup>  |
| T6          | 1070.96 ± 62.75 <sup>f</sup>   | 295.66 ± 8.17 <sup>b</sup> | 5.93 ± 0.09 <sup>bc</sup> | 13.69 ± 0.39 <sup>c</sup> |
| T7          | 2784.47 ± 289.38 <sup>bc</sup> | 341.53 ± 3.82 <sup>c</sup> | 4.89 ± 1.21 <sup>bc</sup> | 10.58 ± 0.79 <sup>d</sup> |
| T8          | 2767.91 ± 98.45 <sup>b</sup>   | 257.24 ± 0.83 <sup>b</sup> | 15.15 ± 1.27 <sup>d</sup> | 11.73 ± 0.21 <sup>e</sup> |
| T9          | 2673.84 ± 57.06 <sup>b</sup>   | 276.00 ± 2.47 <sup>b</sup> | 20.23 ± 0.35 <sup>e</sup> | 12.65 ± 0.01 <sup>f</sup> |

\*SC: Semilla control. Los valores fueron expresados como la media ± desviación estándar (n=3). Letras diferentes entre columnas muestran diferencia significativa entre los tratamientos por cada variable analizada ( $p < 0.05$ ). Las diferencias significativas entre tratamientos se evaluaron mediante un ANOVA de dos vías, seguido de la prueba Fisher LSD ( $\alpha=0.05$ ). Tratamientos (tiempo/amplitud/ciclo): T1) 10min/100 %/0.25s, T2) 5min/100 %/0.5s, T3) 15min/50 %/0.5s, T4) 10min/50 %/1s, T5) 5min/50 %/0.25s, T6) 15min/75 %/0.25s, T7) 15min/100 %/1s, T8) 10min/75 %/0.5s, T9) 5min/75 %/1s.

Los resultados muestran que la extracción asistida por ultrasonido mejora significativamente la liberación de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de los extractos acuosos de semillas de *P. dulce*. En particular, la capacidad reductora medida por FRAP, relacionada con la actividad reductora de hierro, ya que se ha asociado con la inhibición de enzimas como la topoisomerasa II, implicada en la replicación del ADN (Hevener et al., 2018). Por lo tanto, los extractos obtenidos bajo condiciones óptimas de sonicación no solo presentan propiedades antioxidantes destacadas, sino también un posible efecto inhibitor sobre topoisomerasa II, lo cual fue evaluado experimentalmente en este estudio.

### 3.3 Optimización mediante análisis de superficie de respuesta

Se aplicó el análisis de superficie de respuesta considerando efectos lineales, cuadráticos e interacciones a dos factores (tiempo, amplitud, ciclo). El análisis de varianza mostró efectos significativos ( $p < 0.05$ ) de la interacción tiempo y amplitud sobre todas las variables de respuesta (DPPH, ABTS, FRAP y FST). Las condiciones óptimas de extracción se determinaron en 10 min, 100 % de amplitud y un ciclo de 0.625 s. Aunque estas condiciones favorecieron la optimización simultánea de todas las respuestas evaluadas, se seleccionó la variable FRAP como criterio principal de ajuste del modelo, debido a que presentó el menor error residual (2.514), ausencia de falta de ajuste significativa ( $p > 0.05$ ) y un coeficiente de determinación ajustado ( $R^2$ ) superior al 95 % (Tabla 4). Aunque el modelo generado para DPPH presentó un menor coeficiente de determinación ( $R^2 = 0.54$ ), este comportamiento podría atribuirse a la naturaleza del ensayo, que depende fuertemente de la cinética de reacción y de la estabilidad del radical DPPH frente a compuestos de diferente polaridad. Por tanto, en sistemas complejos como los extractos vegetales, esta variabilidad puede limitar el ajuste del modelo matemático, por lo que se priorizó el modelo FRAP, que mostró mayor consistencia estadística ( $R^2 > 0.95$ ) y relevancia biológica.

El análisis de las superficies de respuesta indicó que, con el ciclo fijo en 0.625 s, amplitudes entre 75–100 % y tiempos cercanos a 10 min promovieron un incremento en la capacidad antioxidante en los tres métodos evaluados. Sin embargo, para ABTS y FRAP se observó una disminución de la respuesta antioxidante con tiempos prolongados a alta amplitud, mientras que el contenido fenólico total (FST) mostró una tendencia ascendente a mayores tiempos de exposición, lo que sugiere que la liberación de compuestos fenólicos requiere mayor intensidad y duración del tratamiento por ultrasonido.

**Tabla 4.** Ecuaciones de predicción de los distintos ensayos realizados y su ajuste.

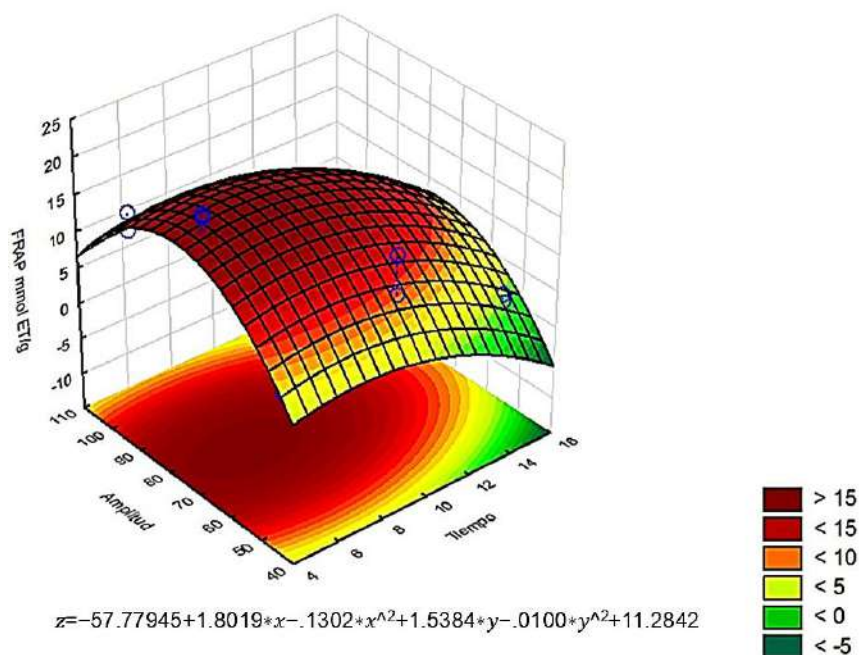
**Table 4.** Prediction equations of the different assays performed and their fit.

| Ensayo | Ecuación de predicción                                        | $R^2$  | Lack of fit | Condición óptima (tiempo/amplitud/ciclo) |
|--------|---------------------------------------------------------------|--------|-------------|------------------------------------------|
| ABTS   | $-683.6279x + 20.3418x^2 - 492.2748y + 3.3051y^2 + 1984.0470$ | 0.9949 | >0.05       | 10min/100 %/0.625                        |
| DPPH   | $-317.0410x + 21.1172x^2 - 106.0659y + 0.84559y^2 - 285.4567$ | 0.5440 | >0.05       | 10min/100 %/0.625                        |
| FRAP   | $1.8019x - 0.1303x^2 + 1.5385y - 0.01003y^2 + 11.2843$        | 0.9607 | >0.05       | 10min/100 %/0.625                        |
| FST    | $0.6202x - 0.0239x^2 - 0.05936y + 0.0008y^2 + 1.2196$         | 0.9934 | >0.05       | 10min/100 %/0.625                        |

A partir de la ecuación generada por los modelos, se construyeron superficies de respuesta para cada variable dependiente (FST, DPPH, ABTS y FRAP), con el propósito de optimizar el proceso de extracción. Entre ellas, la superficie correspondiente al método FRAP (Fig. 1) fue seleccionada como modelo óptimo, ya que presentó un ajuste estadísticamente significativo ( $R^2 > 95$ ) y un ajuste de modelo superior al 0.05 (Lack of fit). El interés en esta variable radica en que la capacidad antioxidante medida por FRAP, asociada a la actividad reductora y quelante de hierro, ha sido

vinculada con la inhibición de topoisomerasas, lo que constituye un objetivo central en esta investigación.

En la superficie de respuesta se observó que la capacidad reductora se incrementó con el aumento del tiempo y la amplitud del ultrasonido, alcanzando valores máximos alrededor de los 10 min y 100 % de amplitud. Este comportamiento indica un efecto positivo de ambos factores en la liberación de compuestos antioxidantes, producto de una cavitación más intensa que favorece la ruptura celular. Sin embargo, a tiempos más prolongados, el efecto cuadrático del tiempo genera una ligera disminución en la respuesta, posiblemente debido a la degradación mecánica u oxidativa de algunos compuestos fenólicos. Asimismo, la interacción entre tiempo y amplitud evidenció un efecto sinérgico, donde la combinación de tiempos moderados y alta amplitud promovió la máxima capacidad reductora observada.



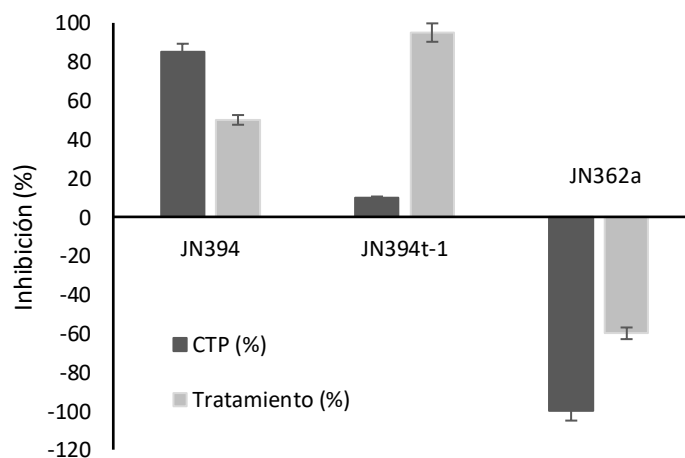
**Figura 1.** Superficie de respuesta para FRAP (10 min, 100% amplitud, 0.625 s ciclo).

**Figure 1.** Response surface for FRAP (10 min, 100% amplitude, 0.625 s cycle).

### 3.4 Ensayo antitopoisomerasa del extracto optimizado

El extracto obtenido bajo condiciones optimizadas fue evaluado con las cepas *Saccharomyces cerevisiae* JN394, JN362a y JN394t-1 (Fig. 2), con el objetivo de determinar su actividad inhibidora sobre enzimas topoisomerasa. Se observó inhibición del crecimiento celular en las cepas JN394 (51 %) y JN362a (21 %), lo que sugiere la presencia de compuestos con actividad antitopoisomerasa tipo II. La cepa JN362a presenta mecanismos de reparación del ADN altamente eficientes en comparación con las demás cepas utilizadas, lo que le permite mantener un desarrollo celular normal (Redon et

al., 2003). El extracto evaluado no mostró inhibición sobre esta cepa, lo cual es un resultado esperado y favorable, ya que indica que el extracto no ejerce efectos citotóxicos inespecíficos ni interfiere con células funcionalmente sanas. Por su parte, la cepa JN394 está genéticamente modificada para presentar una deficiencia en los mecanismos de reparación del ADN, lo que la hace especialmente sensible a compuestos que interfieren con la integridad genómica. El extracto optimizado mostró un 51 % de inhibición del crecimiento en esta cepa, valor que supera en 0.58 veces la inhibición observada con el control positivo (camptotecina), dado que el extracto optimizado se probó a una concentración de 1 mg/mL, esto equivale a una concentración de 65.5  $\mu\text{mol ET/g}$  de extracto utilizado. La inhibición significativa de JN394, junto con la ausencia de efecto sobre JN362a, que posee mecanismos de reparación eficientes, sugiere que el extracto actúa específicamente sobre enzimas topoisomerasas, y no por un efecto antimicrobiano inespecífico. En caso de que sí se hubiera observado inhibición en JN362a, la actividad se atribuiría más probablemente a un efecto citotóxico general o antimicrobiano (Khan et al., 2002). Para confirmar la especificidad del efecto sobre la topoisomerasa tipo II, se utilizó la cepa JN394t-1, la cual carece del gen *TopI* que codifica para la topoisomerasa tipo I, lo que permite atribuir cualquier inhibición observada a la acción sobre topoisomerasa tipo II. En esta cepa, el extracto mostró un 21 % de inhibición, 0.28 veces mayor que el control positivo, lo que respalda la hipótesis de que la actividad biológica observada se dirige específicamente contra la topoisomerasa tipo II.



**Figura 2.** Porcentaje de inhibición de cepas *S. cerevisiae* genéticamente modificadas. CTP: control positivo Camptotecina. Tratamiento: Condiciones óptimas de extracción (10 min, 100 % amplitud, 0.625 s ciclo). Los valores negativos indican crecimiento celular de la cepa.

**Figure 2.** Inhibition percentage of genetically modified *S. cerevisiae* strains. CTP: positive control Camptothecin. Treatment: optimal extraction conditions (10 min, 100 % amplitude, 0.625 s cycle). Negative values indicate cell growth of the strain.

Estos resultados indican que el extracto acuoso de semilla de *P. dulce*, obtenido mediante extracción asistida por ultrasonido, presenta actividad antitopoisomerasa tipo II. Aunque estudios previos, como el de Gupta et al. (2016) han reportado efectos antiproliferativos de extractos de hojas de *P. dulce* sobre líneas celulares de cáncer de próstata ( $\text{GI}_{50} = 3.7 \mu\text{g/mL}$ ), hasta la fecha no se habían documentado efectos biológicos asociados a las semillas. Este hallazgo aporta evidencia preliminar

sobre el potencial bioactivo de un subproducto vegetal poco explorado y sugiere que podría representar una fuente alternativa de compuestos con actividad biológica relevante. La ausencia de efectos citotóxicos sobre células con mecanismos de reparación intactos, junto con la inhibición observada en células deficientes en topoisomerasa II, apoya la hipótesis de una acción selectiva. En conjunto, estos resultados sientan las bases para estudios posteriores orientados al aislamiento y caracterización de los compuestos activos presentes en las semillas, así como para su evaluación en líneas celulares eucariotas, con miras a su posible aplicación farmacológica o nutracéutica. Hoy en día, existe una creciente búsqueda por matrices ricas en CB y las semillas de guamúchil representan una fuente prometedora, la cual, en la actualidad carece de algún valor agroindustrial. De esta manera, la EAU contribuye a una obtención de CB amigable con el medio ambiente, y a la reducción de desechos generados.

## 4. Conclusiones

La extracción asistida por ultrasonido (EAU) permitió optimizar la liberación de compuestos fenólicos y potenciar la capacidad antioxidante de semillas de *Pithecellobium dulce*. El análisis de superficie de respuesta identificó condiciones óptimas de 10 min, 100 % de amplitud y 0.625 s de ciclo, que generaron extractos con alta concentración de fenoles solubles totales y máxima capacidad antioxidante (ABTS, DPPH y FRAP). El extracto obtenido bajo estas condiciones mostró una inhibición global del 51 % y una actividad específica del 21 % sobre topoisomerasa tipo II en cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, sin evidencias de citotoxicidad en células con mecanismos de reparación intactos. Estos resultados confirman la eficacia de la EAU como técnica sostenible para obtener extractos bioactivos y constituyen la primera evidencia de actividad antitopoisomerasa en semillas de *P. dulce*. En conjunto, los resultados demuestran que las semillas de guamúchil, tradicionalmente subutilizadas, poseen un alto potencial como fuente de compuestos funcionales aplicables en las industrias nutracéutica y farmacéutica. Futuras investigaciones deberán centrarse en el aislamiento e identificación de los metabolitos responsables de la actividad observada, así como en su validación en modelos celulares y animales para fortalecer su aplicabilidad terapéutica.

## Contribuciones de los autores

Conceptualización, Sánchez-Burgos; metodología, Sánchez-Burgos y Zamora-Gasga; software, Zamora-Gasga; validación, Zamora-Gasga y Pérez-Larios; análisis formal, Sánchez-Burgos y Prado-Guzmán; investigación, Prado-Guzmán y Miramontes-Escobar; redacción-redacción del borrador original, Prado-Guzmán y Miramontes-Escobar; redacción-revisión y edición, Miramontes-Escobar y Sánchez-Burgos; visualización, Pérez-Larios; supervisión; Pérez-Larios; administración del proyecto, Sánchez-Burgos. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

## Agradecimientos

Gladys América Prado-Guzmán agradece la beca al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT- Número de registro: 887668)

## Conflicto de interés

Los autores no tienen conflictos de intereses en la publicación de estos resultados.

## 5. Referencias

- Aldarhami, A., Bazaid, A. S., Alhamed, A. S., Alghaith, A. F., Ahamad, S. R., Alassmrry, Y. A., ... & Alreshidi, M. (2023). Antimicrobial potential of *Pithecellobium dulce* seed extract against pathogenic bacteria: in silico and in vitro evaluation. *BioMed Research International*, 2023(1), 2848198. <https://doi.org/10.1155/2023/2848198>
- Alvarez-Parrilla, E., De La Rosa, L. A., Amarowicz, R., & Shahidi, F. (2011). Antioxidant activity of fresh and processed Jalapeño and Serrano peppers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(1), 163–173. <https://doi.org/10.1021/jf103434u>
- AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis of AOAC International* (18th ed., Rev. 2005). Association of Official Analytical Chemists International, Gaithersburg, MD, USA
- Barba, F. J., Zhu, Z., Koubaa, M., Sant'Ana, A. S., & Orlie, V. (2016). Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 49, 96–109. <https://doi.org/10.1016/j.TIFS.2016.01.006>
- Borthwick, K. A. J., Coakley, W. T., McDonnell, M. B., Nowotny, H., Benes, E., & Gröschl, M. (2005). Development of a novel compact sonicator for cell disruption. *Journal of Microbiological Methods*, 60(2), 207–216. <https://doi.org/10.1016/j.MIMET.2004.09.012>
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Contreras-López, E., Castañeda-Ovando, A., Jaimez-Ordaz, J., Cruz-Cansino, N. S., González-Olivares, L. G., Rodríguez-Martínez, J. S., & Ramírez-Godínez, J. (2020). Release of Antioxidant Compounds of *Zingiber officinale* by Ultrasound-Assisted Aqueous Extraction and Evaluation of Their In Vitro Bioaccessibility. *Applied Sciences* 10(14), 4987. <https://doi.org/10.3390/app10144987>
- Da Porto, C., Natolino, A., & Decorti, D. (2015). The combined extraction of polyphenols from grape marc: Ultrasound assisted extraction followed by supercritical CO<sub>2</sub> extraction of ultrasound-raffinate. *LWT - Food Science and Technology*, 61(1), 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.LWT.2014.11.027>
- Dhanisha, S. S., Drishya, S., & Guruvayoorappan, C. (2021). Traditional knowledge to clinical trials: A review on nutritional and therapeutic potential of *Pithecellobium dulce*. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 33(2), 133–142. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2020-0166>
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry* 28(3), 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Gupta, M.P., Olmedo Agudo, D.A., Marrone Paredes, N.S., Espinosa Rivas, A.F., & Guerra Torres, C.P. (2016). Evaluación de la actividad antiproliferativa de extractos metanólicos de plantas de la familia leguminosae. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 21(3). <https://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/355>

- Hameed, A., Srivastav, Y., Afaq, H., Hashmi, A., & Ahmad, Mohd. I. (2024). Outline of the Pharmacological and Phytochemical Profile of the Jungle Jalebi (*Pithecellobium dulce*). *Asian Plant Research Journal*, 12(2), 22–27. <https://doi.org/10.9734/aprj/2024/v12i2245>
- Hernández-Montesinos, I. Y., Carreón-Delgado, D. F., Lazo-Zamalloa, O., Tapia-López, L., Rosas-Morales, M., Ochoa-Velasco, C. E., Hernández-Carranza, P., Cruz-Narváez, Y., & Ramírez-López, C. (2024). Exploring Agro-Industrial By-Products: Phenolic Content, Antioxidant Capacity, and Phytochemical Profiling via FI-ESI-FTICR-MS Untargeted Analysis. *Antioxidants*, 13(8), 925. <https://doi.org/10.3390/antiox13080925>
- Hevener, K. E., Verstak, T. A., Lutat, K. E., Riggsbee, D. L., & Mooney, J. W. (2018). Recent developments in topoisomerase-targeted cancer chemotherapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 8(6), 844–861. <https://doi.org/10.1016/J.APSB.2018.07.008>
- Jensen, L.H., Nitiss, K.C., Rose, A., Dong, J., Zhou, J., Hu, T., Osheroff, N., Jensen, P.B., Sehested, M., & Nitiss, J.L. (2000). A Novel Mechanism of Cell Killing by Anti-topoisomerase II Bisdioxopiperazines\*. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(3), 2137 - 2146. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.3.2137>
- Kavita, K., Sarla, L., & Ojha, K. (2023). Physico-Functional Properties of Jungle Jalebi (*Pithecellobium dulce*) Fruit Powder. *Biological Forum-An International Journal*, 15(5), 897-905. [https://www.researchgate.net/publication/372956985\\_Physico-Functional\\_Properties\\_of\\_Jungle\\_Jalebi\\_Pithecellobium\\_dulce\\_Fruit\\_Powder](https://www.researchgate.net/publication/372956985_Physico-Functional_Properties_of_Jungle_Jalebi_Pithecellobium_dulce_Fruit_Powder)
- Khan, S. I., Nimrod, A. C., Mehrpooya, M., Nitiss, J. L., Walker, L. A., & Clark, A. M. (2002). Antifungal activity of eupolauridine and its action on DNA topoisomerases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(6), 1785–1792. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.6.1785-1792.2002>
- Kidak, R., & Ince, N. H. (2006). Ultrasonic destruction of phenol and substituted phenols: A review of current research. *Ultrasonics Sonochemistry*, 13(3), 195–199. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2005.11.004>
- Kulkarni, K. V., & Jamakhandi, V. R. (2018). Medicinal uses of *Pithecellobium dulce* and its health benefits. *J Pharmacogn phytochem*, 7(2), 700-704. <https://www.phytojournal.com/archives/2018.v7.i2.3358/medicinal-uses-of-pithecellobium-dulce-and-its-health-benefits>
- Kumar, R., Usmani, S., Singh, B., Prakash, O., Verma, P., Wahab, S., & Khatoon, S. (2022). A comprehensive review on phytopharmacological perspectives of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. *Annals of Phytomedicine: An International Journal*, 11(1), 115-120. <https://doi.org/10.54085/ap.2022.11.1.11>
- Martínez-Olivo, A. O., Carlos-Murillo, M. U., Sáyago-Ayerdi, S. G., Sánchez-Burgos, J. A., & Zamora-Gasga, V. M. (2023). Optimization of ultrasonic extraction for enhanced polyphenol profile and antioxidant capacity in mango seeds: a comparative study with thermal extraction. *Food Chemistry Advances*, 3, 100480. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100480>
- Momin, R. A., & Nair, M. G. (2002). Antioxidant, cyclooxygenase and topoisomerase inhibitory compounds from *Apium graveolens* Linn. seeds. *Phytomedicine*, 9(4), 312–318. <https://doi.org/10.1078/0944-7113-00131>
- Monroy, R., & Colín, H. (2004). El guamúchil *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth, un ejemplo de uso múltiple. *Madera y bosques*, 10(1), 35-53. <https://doi.org/10.21829/myb.2004.1011278>
- Muñoz, L. A., Cobos, A., Diaz, O., & Aguilera, J. M. (2013). Chia Seed (*Salvia hispanica*): An Ancient Grain and a New Functional Food. *Food Reviews International*, 29(4), 394–408. <https://doi.org/10.1080/87559129.2013.818014>

- Nagmoti, D. M., Kothavade, P. S., Bulani, V. D., Gawali, N. B., & Juvekar, A. R. (2015). Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth seeds extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *European Journal of Integrative Medicine*, 7(3), 263–273. <https://doi.org/10.1016/J.EUJIM.2015.01.001>
- Okeke, U. J., Micucci, M., Mihaylova, D., & Cappiello, A. (2025). The effects of experimental conditions on extraction of polyphenols from African Nutmeg peels using NADESs-UAE: a multifactorial modelling technique. *Scientific Reports*, 15, 4890. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-88233-8>
- Özdemir, M., Ak, İ., Coşkun, S., & Ünverdi, N. (2025). Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from plants. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, 35, 1713475. <https://doi.org/10.56833/gidaveyem.1713475>
- Pereira, T. C., Souza, V. P., Padilha, A. P. F., Duarte, F. A., & Flores, E. M. M. (2025). Trends and perspectives on the ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds using natural deep eutectic solvents. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 47, 101088. <https://doi.org/10.1016/J.COCHE.2024.101088>
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Redon, C., Pilch, D. R., Rogakou, E. P., Orr, A. H., Lowndes, N. F., & Bonner, W. M. (2003). Yeast histone 2A serine 129 is essential for the efficient repair of checkpoint-blind DNA damage. *EMBO Reports*, 4, 678–684. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.embor871>
- Saura-Calixto, F., Garcia-Alonso, A., Goñi, I., & Bravo, L. (2000). In vitro determination of the indigestible fraction in foods: An alternative to dietary fiber analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3342–3347. <https://doi.org/10.1021/jf0000373>
- Silva-Cristobal, L., Osorio-Díaz, P., Tovar, J., & Bello-Pérez, L. A. (2010). Chemical composition, carbohydrate digestibility, and antioxidant capacity of cooked black bean, chickpea, and lentil Mexican varieties Composición química, digestibilidad de carbohidratos, y capacidad antioxidante de variedades mexicanas cocidas de frijol negro, garbanzo, y lenteja. *CyTA—Journal of Food*, 8(1), 7-14. <https://doi.org/10.1080/19476330903119218>
- Sneha, D., Prashanth, S., Kaveti, V. S., & Boggula, N. (2020). Systematic review of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) benth.: A traditional medicinal herb. *Journal For Innovative Development in Pharmaceutical and Technical Science (JIDPTS)*, 3(05), 1-9. [https://jidps.com/paper\\_issue/systematic-review-of-pithecellobium-dulce-roxb-benth-a-traditional-medicinal-herb/](https://jidps.com/paper_issue/systematic-review-of-pithecellobium-dulce-roxb-benth-a-traditional-medicinal-herb/)
- Szabo, K., Mitrea, L., Călinoiu, L. F., Teleky, B. E., Martău, G. A., Plamada, D., Pascuta, M. S., Nemeş, S. A., Varvara, R. A., & Vodnar, D. C. (2022). Natural Polyphenol Recovery from Apple-, Cereal, and Tomato-Processing By-Products and Related Health-Promoting Properties. *Molecules*, 27(22), 7977. <https://doi.org/10.3390/molecules27227977>
- Teixeira, B. A. (2023). Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from plant sources: optimization, kinetic, and modeling study. Tesis. (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.508>
- Zeng, G., Wang, Y., Zhu, M., Yi, J., Ma, J., Yang, B., Sun, W., Dai, F., Yin, J., & Zeng, G. (2024). Inhibition of DNA Topoisomerase I by Flavonoids and Polyacetylenes Isolated from *Bidens pilosa* L. *Molecules*, 29(15), 3547. <https://doi.org/10.3390/molecules29153547>

- Zhong, X., Zhang, S., Wang, H., Yang, J., Li, L., Zhu, J., & Liu, Y. (2022). Ultrasound-alkaline combined extraction improves the release of bound polyphenols from pitahaya (*Hylocereus undatus* 'Foo-Lon') peel: Composition, antioxidant activities and enzyme inhibitory activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 90, 106213. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106213>
- Zhou, Y., Yang, K., Cui, J., Ye, J. Y., & Deng, C. X. (2012). Controlled permeation of cell membrane by single bubble acoustic cavitation. *Journal of Controlled Release*, 157(1), 103–111. <https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2011.09.068>

2025 TECNOCIENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>