

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

**Actividad Antioxidante y Antiproliferativa de Seis
Plantas Medicinales Sonorenses**

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el Título de:

QUÍMICO BIÓLOGO CLÍNICO

Presenta:

Max Vidal Gutiérrez

Hermosillo, Sonora

Julio de 2014

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

FORMA DE APROBACIÓN

Los miembros del jurado calificador del examen profesional de Max Vidal Gutiérrez hemos revisado detenidamente su trabajo escrito titulado Actividad Antioxidante y Antiproliferativa de Seis Plantas Medicinales Sonorenses y encontramos que cumple con los requisitos para la presentación de su examen profesional. Por tal motivo recomendamos se acepte dicho trabajo como requisito parcial para la obtención de título de Químico Biólogo Clínico.

Atentamente:

Dr. Ramón Enrique Robles Zepeda
Director de Tesis

Dra. Adriana Garibay Escobar
Secretaria

Dra. Abril Zoraida Graciano Verdugo
Vocal

M.C. Martha Judith Valdez Ortega
Suplente

AGRADECIMIENTOS

A mis sinodales, Dr. Ramón Enrique Robles Zepeda, Dra. Adriana Garibay Escobar, Dra. Abril Zoraida Graciano Verdugo y M.C. Martha Judith Valdez Ortega, por todo su apoyo académico que me proporcionaron durante la elaboración de mi tesis en la Universidad de Sonora.

A M.C. Lucila Rascón, por proporcionarme material de estudio y trabajo cuando lo necesité.

A M.C. Oralia Orduño Fragoza, por guiarme amablemente en el transcurso de mis estudios de licenciatura y por tenerme la confianza de trabajar a su lado en varias ocasiones, trabajo que me formó como químico y sobre todo como persona.

A Dra. María Alba Guadalupe Corella Madueño y a M.C. Antonio Rascón Careaga, por darme la confianza de trabajar a su lado, por todos sus grandes consejos, ánimos y buenos deseos que me proporcionaron durante el tiempo que estudié la licenciatura.

A mis compañeros de laboratorio de productos naturales e inmunología, Heriberto Torres, Francisco Olivas, Efraín Alday, Ana Laura Carreño, Wenceslao Coronado, David Ortega, Mariana González, Mario Leyva, Luis Alberto Zamora, Raúl López, Julieta Lara, Adriana Santeliz, Sergio Morales, Paola Curiel, Estrella Marrón, Ángel Villalpando, Brenda Samaniego, Héctor R. Ramírez, Samuel Alday, Paola Gastelum, Alejandra Valdez, Dra. Jael Quintero, Dra. Adriana Garibay y M.C. Martha Judith Valdez por todo ese tiempo lleno de risas, convivios y buenos momentos que pasamos juntos, así como todos sus consejos y enseñanzas que siempre recordaré.

A mis compañeros, amigos y profesores M.C. Heriberto Torres Moreno, M.C. Efraín Alday y M.C. Wenceslao Coronado Aceves por brindarme de sus conocimientos, consejos y técnicas de trabajo dentro y fuera del laboratorio.

Un agradecimiento muy especial al Dr. Ramón Enrique Robles Zepeda por darme la oportunidad y confianza de trabajar a su lado en este maravilloso proyecto, por compartirme de su experiencia, sabiduría y amistad a cada momento dentro y fuera del laboratorio. De esta manera espero estar honrando aquel gran tiempo y esfuerzo que nos dedica a cada uno de sus alumnos.

DEDICATORIAS

A Dios por prestarme vida día a día, por colocarme en el camino experiencias que me han formado como persona al lado de la mejor familia, amigos y compañeros.

A mi madre María Lourdes del Carmen Gutiérrez Cohen que con su dedicación, esfuerzo y amor nos ha sacado siempre adelante con el único objetivo de ver triunfar a su familia.

A mi padre Fernando Vidal Cañez que con el sudor de su frente nos ha sacado adelante teniendo como inspiración el amor que tiene por sus hijos.

A mis hermanos Fernando, Alan, Lourdes, Cecilia y Fátima que siempre han estado conmigo apoyándome incondicionalmente a seguir siempre firme.

A mi compañera de vida y mejor amiga, que con su cariño, paciencia y comprensión he logrado obtener inspiración para salir adelante, Oralia Jimena Chávez Orduño.

A mis tíos Fernando Gutiérrez Cohen y Max Gutiérrez Cohen que siempre me apoyaron y fueron parte del éxito de esta parte de mi vida.

A mi abuela Gloria Cañez que siempre me ha estado apoyando dándome ánimos, bendiciones y sabios consejos para salir adelante.

A mi abuela Ida "chinita" Cohen que aunque ya no se encuentra entre nosotros, siempre me acompañó, me dio sus bendiciones y apoyó a lo largo de mi vida y parte de mi carrera para que saliera adelante, hoy se que desde lo más alto del cielo me guía en el camino.

Para mis amigos incondicionales Manuel Osuna Carreón, Gilberto Apodaca Pérez, Fernando Castañeda Vargas y Olga Rivera Plavlovich a los cuales les agradezco su tiempo, amistad y confianza.

CONTENIDO

	Página
LISTA DE TABLAS	7
LISTA DE FIGURAS	8
OBJETIVOS	9
General.....	9
Particulares.....	9
RESUMEN	10
INTRODUCCIÓN	12
ANTECEDENTES	13
El Cáncer.....	13
El Cáncer en el Mundo.....	13
El Cáncer en México.....	14
Terapias contra el Cáncer y sus Efectos Secundarios.....	14
Las Plantas como Medicamento.....	15
Medicina Tradicional.....	17
Metabolismo de las Plantas.....	18
Metabolitos secundarios.....	18
Compuestos fenólicos.....	19
Compuestos sulfurados.....	19
Terpenos.....	20
Alcaloides.....	21
Acetilenos y psoralenos.....	22
Características y Propiedades Medicinales de <i>Acacia cochliacantha</i> y <i>Acacia constricta</i>	23
<i>Acacia cochliacantha</i>	23
<i>Acacia constricta</i>	23

Características y Propiedades Medicinales de <i>Bursera hindsiana</i> , <i>Bursera laxiflora</i> y <i>Bursera microphylla</i>	24
<i>Bursera hindsiana</i>	24
<i>Bursera laxiflora</i>	24
<i>Bursera microphylla</i>	25
Características y Propiedades Medicinales de <i>Jacquinia</i> <i>macrocarpa ssp pungens</i>	25
MATERIALES Y MÉTODOS	27
Obtención de Resinas y Extractos Metanólicos.....	27
Capacidad estabilizadora de Radicales Libres.....	27
Capacidad Reductora del Radical ABTS (2,2'-azinobis (3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium).....	28
Capacidad Reductora del Radical Libre DPPH (2,2-difenil-1- picrihidrazil).....	29
Cultivo Celular.....	29
Medición de la Viabilidad Celular Mediante el Ensayo MTT.....	30
Índice de Selectividad.....	31
Análisis y Diseño Experimental.....	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
Obtención de las Resinas y Extracción Metanólica de las Muestras.....	32
Actividad Antioxidante Método ABTS.....	32
Actividad Antioxidante Método DPPH.....	33
Actividad Antiproliferativa Método MTT e Índice de Selectividad.....	37
CONCLUSIONES	43
RECOMENDACIONES	44
BIBLIOGRAFÍA	45
ANEXOS	49

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Efectos secundarios de la quimioterapia.....	17
2. Obtención y rendimiento de los extractos metanólicos.....	33
3. Actividad antioxidante de extractos metanólicos y resinas de seis plantas medicinales por el método ABTS expresado en $\mu\text{gET/mL}$	34
4. Actividad antioxidante de extractos metanólicos y resinas de seis plantas medicinales por el método DPPH expresado en $\mu\text{gET/mL}$	35
5. Actividad antiproliferativa de extractos metanólicos y resinas de seis plantas medicinales.....	38
6. Índice de selectividad de extractos metanólicos y resinas sobre las líneas celulares cancerosas respecto a la línea celular control L-929.....	39

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Estructuras generales de los principales flavonoides.....	20
2. Estructura química del paclitaxol y docetaxel.....	21
3. Estructura molecular del sulfato de vinblastina.....	22

OBJETIVOS

General

Evaluar la actividad antioxidante y antiproliferativa de extractos metanólicos y resinas de seis plantas medicinales sonorenses.

Particulares

- Obtener los extractos metanólicos de las plantas *Acacia cochliacantha*, *Acacia constricta*, *Bursera laxiflora* y *Jacquinia macrocarpa ssp pungens* así como las resinas de las plantas *Bursera hindsiana* y *Bursera microphylla*.
- Evaluar la actividad antioxidante de los extractos metanólicos y las resinas obtenidas mediante el ensayo del poder antioxidante reductor del radical ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium) y reducción del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).
- Evaluar la actividad antiproliferativa de los extractos metanólicos y las resinas en las líneas celulares A549, HeLa, L-929, M12A^k.C3F6 y RAW 264.7

RESUMEN

Cada año mueren en el mundo millones de personas a causa del cáncer. En México los tipos de cáncer con más mortalidad son el cáncer de pulmón y bronquios, próstata, hígado, estómago y mama (INEGI, 2013). La necesidad de obtener nuevos medicamentos con mayor especificidad sobre el cáncer es indispensable para reducir el número de defunciones. Las plantas representan la más antigua y variada forma de remedios medicinales, para el cáncer esta fuente no es una excepción, ya que se han logrado aislar medicamentos anticancerígenos como el taxol y la vinblastina. En México existen un amplio número de plantas conocidas por sus efectos medicinales así como por su actividad antiproliferativa *in vitro*. Para fines de esta investigación, se seleccionaron a las plantas medicinales *Acacia cochliacantha*, *Acacia constricta*, *Bursera hindsiana*, *Bursera laxiflora*, *Bursera microphylla* y *Jacquinia macrocarpa ssp pungens* originarias del estado de Sonora. Se evaluó la actividad antioxidante mediante el método ABTS y DPPH, y la actividad antiproliferativa sobre cinco líneas celulares (A549, HeLa, M12A^k.C3.F6, RAW 264.7 y L-929) mediante el método del MTT. Los resultados obtenidos por los métodos ABTS y DPPH de actividad antioxidante, muestran buena actividad antioxidante en dos de las seis plantas; *Acacia cochliacantha* con 63.7 µgET/mL y 41.5 µgET/mL a la máxima concentración evaluada de 200 µg/mL por el método ABTS y DPPH respectivamente, para *Bursera laxiflora* la actividad antioxidante fue de 105.8 µgET/mL y 95.0 µgET/mL a la máxima concentración por los métodos ABTS y DPPH respectivamente. En la actividad antiproliferativa, cuatro de las seis plantas presentan actividad antiproliferativa considerable sobre las cuatro líneas celulares cancerosas (A549, HeLa, M12A^k.C3.F6 y RAW 264.7); *Bursera laxiflora* mostró una IC₅₀ de 93.7 µg/mL sobre la línea celular HeLa, *Bursera hindsiana* presenta IC₅₀ de 58.7 µg/mL en línea celular RAW 264.7, el extracto metanólico de las partes aéreas de *Jacquinia macrocarpa ssp pungens* exhibe una IC₅₀ de 45 µg/mL para la línea celular M12A^k.C3.F6, *Bursera microphylla* expone la IC₅₀ de 13.8 µg/mL hacia la línea celular HeLa, y el extracto metanólico de las cáscaras del fruto de *Jacquinia macrocarpa ssp pungens* con IC₅₀ de 9.2 µg/mL para la línea celular A549. Se recomienda seguir investigando los componentes del extracto metanólico de *Bursera laxiflora* y *Jacquinia macrocarpa ssp pungens*, así como las resinas de *Bursera hindsiana* y *Bursera*

microphylla para determinar los compuestos responsables de la actividad antiproliferativa sobre líneas celulares cancerosas.

INTRODUCCIÓN

Diversas líneas de investigación indican que las plantas representan la más antigua y variada forma de medicación (Halberstein, 2005). La asociación de animales y humanos con las plantas remonta desde el origen de la vida sobre la tierra, donde las plantas proporcionaron vivienda, oxígeno, comida y medicina a las formas de vida superior. Con el paso del tiempo y el comienzo de las sociedades, el humano aprendió a categorizar los materiales que las plantas pueden proveer para su uso en diferentes necesidades. Dentro de estos usos destaca el empleo de hierbas y extractos herbarios para aliviar el dolor y tratar diferentes enfermedades (Mamedov, 2012).

Una de las más antiguas evidencias escritas de plantas medicinales se encuentra en una losa de arcilla Sumeria en Nagpur, de India, que remonta a aproximadamente 5000 años en la historia (Petrovska, 2012). También hay indicios de que los antiguos Egipcios de 3000 a 6000 años en el pasado, desarrollaron una numerosa colección de efectivos productos farmacológicos derivados de productos naturales (Halberstein, 2005).

Aproximadamente 250,000 especies de plantas crecen alrededor del mundo, hasta hoy solo el 17% ha sido investigado su potencial medicinal. Los químicos y la variedad biológica de las plantas representan una gran fuente ilimitada y renovable de productos para el desarrollo de nuevos fármacos. Durante el último siglo el origen de la mayoría de los medicamentos han sido derivados directamente de plantas y animales (Mamedov, 2012; Halberstein, 2005).

Son muchas las enfermedades que son tratadas con productos naturales, un grupo de enfermedades de interés público donde se usan medicamentos de origen natural son las del cáncer. El cáncer no es solo una enfermedad, es el nombre de una variedad de por lo menos, cien enfermedades muy distintas entre sí que se producen por el crecimiento anormal y desordenado de las células del cuerpo debido a alteraciones en oncogenes, genes supresores de tumores y genes microRNA. Estas alteraciones pueden ser causadas por diferentes factores, entre los que se destacan, la exposición prolongada al sol, rayos UV, tabaco, drogas, dieta pobre en antioxidantes, baja actividad física, exposición a

radiación, medicamentos, factores genéticos, virus, diversos químicos, etcétera. En estado normal la célula se divide de forma organizada a través de una serie de pasos ordenados llamado ciclo celular, cuando estos factores dañan la clave cromosómica genética, afectan el ciclo celular causando alteraciones celulares que dan como resultado mensajes erróneos a la célula transformándose en cancerosa. Esto hace que pierda el control de su propio desarrollo, de modo que se divide en más células a mayor velocidad que el resto de las células del tejido al que pertenece, sin cumplir con las funciones para lo que ha sido creada (Alberts y col., 2002; Carlo y Crode, 2008; MPSINCRP, 2004).

Uno de las causas frecuentes de cáncer es el estrés oxidativo, esto sucede cuando la cantidad de radicales libres en el cuerpo está fuera de balance. Los radicales libres son moléculas que tienen desapareado un electrón, esta característica los hace sumamente reactivos y capaces de reaccionar con otras moléculas generando una reacción en cadena que puede llegar a dañar desde células hasta tejidos completos. Hay diferentes tipos de radicales libres, sin embargo todos son capaces de dañar desde proteínas o moléculas en la célula, hasta el propio ADN, provocando mutaciones que pueden dar origen a un cáncer (Dorado y col., 2003).

Los antioxidantes son sustancias que protegen a las células del daño causado por los radicales libres. Las moléculas de radicales libres son estabilizadas por la interacción originada con los antioxidantes, una vez neutralizados los radicales libres son incapaces de lesionar a la célula. De esta manera los antioxidantes evitan el daño celular causado por los radicales libres que puede dar origen al cáncer (NCI, 2004).

Según las estadísticas del año 2008, a nivel mundial se registraron alrededor de 12,7 millones de nuevos casos de cáncer y 7,8 millones de defunciones por esta misma causa. En México las cifras también son grandes, en el 2011 se registraron 71,350 defunciones por tumores malignos, donde destacan el cáncer de pulmón y bronquios, próstata, hígado, estómago y mama como los principales responsables de dichos fallecimientos (Ahmedin y col., 2010; INEGI, 2013).

Los pacientes que sufren de algún tipo de cáncer requieren de medicamentos para combatir dicha enfermedad, estos medicamentos suelen tener efectos secundarios

variables, ya que las medicinas diseñadas para la quimioterapia tienen como objetivo eliminar células de rápido crecimiento, como lo son las células cancerosas, sin embargo, el cuerpo también cuenta con células normales de rápido crecimiento, como lo son las raíces del cabello, medula ósea, piel y sistema digestivo. Por lo tanto, muchas de las medicinas contra el cáncer administradas actualmente, también dañan a esta clase de células, lo que suele evidenciarse en sus característicos efectos secundarios de caída del cabello, falta de apetito, náuseas, inmunodeficiencias, debilitamiento de las uñas, entre otras. Estas células normales se regeneran una vez que los medicamentos quimioterapéuticos han sido expulsados del cuerpo haciendo desaparecer los efectos colaterales (Komen, 2009).

El interés por encontrar medicamentos más eficientes contra el cáncer, se ha enfocado en el estudio de plantas que puedan contener moléculas o grupos de moléculas con potencial anticancerígeno. Según ciertos grupos étnicos, existen plantas que tras su consumo por una previa preparación, combaten al cáncer o a un cáncer en particular, ya sea eliminando la enfermedad o controlando la velocidad de proliferación.

En México existen numerosos grupos étnicos con un rico conocimiento de medicina natural. En el noroeste de México se han reportado investigaciones de plantas con actividad antioxidante y antiproliferativa como lo es *Krameria erecta* (Jimenez-Estrada y col., 2013), lo que nos lleva a pensar que el clima y la geografía del noroeste de México tiene el potencial de estimular a las plantas de la región a la producción de moléculas antioxidantes y compuestos con actividad biológica antiproliferativa en células cancerosas. Es por ello que en esta investigación se seleccionó a *Acacia cochliacantha*, *Acacia constricta*, *Bursera hindsiana*, *Bursera laxiflora*, *Bursera microphylla* y *Jacquinia macrocarpa ssp pungens* para determinar su actividad antioxidante y antiproliferativa.

ANTECEDENTES

El Cáncer

El cáncer es una variedad de enfermedades distintas entre sí que se producen por el crecimiento anormal y desordenado de las células. En general el cáncer no se origina por una sola causa, sino que en su generación operan múltiples factores; por lo que se dice que el cáncer es una enfermedad multifactorial. Las causas del cáncer se clasifican en dos categorías, internas y externas:

- Las internas se conocen como una predisposición genética, lo que indica que ciertas familias heredan un gen anormal que lo predispone a desarrollar cáncer. Esto solo sucede en el 5-10% del total de casos.
- Las causas externas son debido a agentes físicos, químicos o biológicos que afectan a los genes de las células transformándolas en cancerosas. La mayoría de los casos de cáncer se atribuyen a esta causa.

Un simple cambio genético es raramente suficiente para producir un cáncer, la evidencia apunta a un proceso de múltiples pasos de alteraciones secuenciales en varios oncogenes, genes supresores de tumores o genes de microRNA en células cancerosas (Carlo y Crode, 2008; MPSINCRP, 2004)

El Cáncer en el Mundo

Estudios del 2008 registraron alrededor de 12,7 millones de nuevos casos de cáncer y 7,6 millones de defunciones por este mal a nivel mundial. El diagnóstico de los diferentes tipos de cáncer varía considerablemente entre países y sexo; el cáncer más común detectado en

hombres en grandes regiones de Asia y este de Europa es el de pulmón; en el norte y sur de América, Australia, oeste y norte de Europa es el cáncer de próstata; en el oeste de África el cáncer de hígado; en partes del centro de África el sarcoma de Kaposi; cáncer de esófago en el este de África y de vejiga en Egipto. Mientras que en las mujeres el cáncer más común en todo el mundo es el de mama; cáncer cervical en el centro y sur de América, África subsahariana e India; cáncer en hígado en Mongolia y Vietnam; y el cáncer de pulmón en China y Corea del norte (Ahmedin y col., 2010).

El Cáncer en México

Durante el año 2011, en México fallecieron 71,350 personas por tumores malignos, siendo el cáncer de pulmón, bronquios y tráquea los que ocupa el primer lugar con el 9.4% de las defunciones, del cual se atribuye el 70% al consumo de tabaco. Después sigue con el 8% de las muertes el cáncer de próstata y con el 7.8% los tumores estomacales, de donde los hábitos alimenticios resultan como el principal factor de riesgo para este tipo de malformaciones. Estas estadísticas varían mucho cuando las evaluaciones son dependientes del sexo. En la mujer el 14.3% de los fallecimientos se debe al cáncer de mama, seguido por el de cuello uterino con un 10.8% y el 7.8% del cáncer de hígado y vías biliares intrahepáticas. Por parte del sexo masculino, el cáncer de próstata cobró el 16.2% del total de defunciones por tumores malignos en 2011, seguido por el cáncer de bronquios y pulmón con un 12.4% y el de estómago con el 8.3% (INEGI, 2013).

Terapias Contra el Cáncer y los Efectos Secundarios

Existen diferentes formas de combatir al cáncer, dentro de esta variedad se encuentra la cirugía como remedio para algunos tipos de tumores localizados, la radioterapia utilizada para diferentes tipos de cáncer como leucemias, cáncer de tiroides, y la quimioterapia (ACS, 2014).

La quimioterapia se diferencia de la cirugía y la radioterapia al ser considerado un tratamiento sistémico contra el cáncer, es decir, que los medicamentos viajan a través de todo el cuerpo para llegar hasta las células cancerosas. En la actualidad se utiliza la quimioterapia para tratar muchos tipos de cáncer existiendo más de 100 medicamentos que se administran solos o en combinación con otros medicamentos o tratamientos (ACS, 2013).

La forma de administración de la quimioterapia va desde la endovenosa, oral, intramuscular, hasta la intratecal. Sin embargo, muchos medicamentos quimioterapéuticos no pueden detectar la diferencia entre las células normales y las células cancerosas, lo cual depende de muchos factores, como lo es, la fase del ciclo celular, la cantidad de células cancerosas en comparación con las normales, el medicamento quimioterapéutico, y el tipo y estadio del cáncer a combatir. Estos factores conllevan a la posibilidad de sufrir efectos secundarios que varían de paciente a paciente (ACS, 2013; IDOH, 2011). Algunos ejemplos se muestran en la tabla 1.

Las Plantas como Medicamento

Hay una amplia gama de evidencias arqueológicas que indican que las plantas medicinales eran regularmente utilizadas por las personas desde tiempos prehistóricos. Una de las evidencias más antiguas es de Egipto que remontan de 3000 a 6000 años en la historia, donde se destaca una elaborada y efectiva colección de productos farmacológicos con base en productos naturales (Halberstein, 2005).

Las propiedades medicinales de varias plantas son reconocidas y utilizadas por otros primates. Diferentes especies de simios y monos han sido observados consumiendo diferentes especies botánicas en particular, las cuales contienen compuestos químicos que actúan como analgésicos, antimicrobianos, antiinflamatorios, antidiarreicos, inmunoestimuladores, digestivos y reguladores de la fertilidad. Esta evidencia antropológica

establece la posibilidad del uso de las plantas como medicamentos desde que la evolución marcó los límites de las especies entre los primates (Halberstein, 2005).

Actualmente se conoce, gracias a la Organización Mundial de la Salud (OMS), que cerca del 80% de la población mundial utiliza a las plantas como primera opción de uso en el cuidado de su salud, esto engloba al uso de 35,000 a 70,000 plantas que representan del 14-18% de las 250,000 especies de plantas conocidas (Momedov, 2012).

Tabla 1. Efectos secundarios de la quimioterapia

Efecto secundario	Síntoma
Cansancio	Falta de energía y motivación; daños psicológicos frecuentes.
Trastornos del aparato digestivo	Náuseas, vómitos, diarrea, estreñimiento, mucosis (digestiva, vaginal o rectal) y sequedad bucal.
Alteración de los valores sanguíneos	Anemia, baja de defensas y hemorragias.
Función renal	Daños en riñón y vías urinarias.
Toxicidad cutánea	Alopecia, piel reseca, uñas frágiles, síndrome de mano pie y erupciones cutáneas.
Reacción de hipersensibilidad	Nerviosismo, picor generalizado, coloración rojiza tipo manchas, escalofríos, calambres, dolor abdominal y dificultad al respirar.
Alteraciones de la fertilidad	Pérdida de la menstruación y ausencia del deseo sexual.
Toxicidad neurológica	Entumecimiento y hormigueo en manos y pies, disminución en la sensibilidad de manos y pies, alucinaciones auditivas, disminución en la audición, alteración en el sabor de los alimentos, sensaciones desagradables ante cambios de temperatura y alteraciones en el olfato.

(IDOH, 2011)

Medicina Tradicional

La medicina tradicional se le llama así porque no está comprendida dentro del concepto de medicina alópata o convencional, ya que estos conocimientos son transmitidos de generación en generación, sin embargo es un sistema de salud porque tiene su propia manera de diagnosticar así como de elegir sus métodos de curación; los cuales no solo se dedican exclusivamente al tema corporal, más bien los fundamentos de esta medicina involucran directamente a la sanación espiritual. Esta medicina consiste básicamente en el uso de hierbas, masajes y rituales. Donde el empleo de cada método depende del problema del que se trate (König, 2011).

Los conceptos de medicina tradicional y medicina indígena suelen ser considerados como sinónimos debido a que sus conocimientos son heredados de generación a generación, es por eso que estos sistemas de salud abarcan una amplia variedad de visiones y terapias que pueden diferir mucho entre regiones y países (Ikal, 2011).

En México existen numerosas comunidades indígenas distribuidas a lo largo del territorio, muchas de ellas con un rico conocimiento de medicina tradicional como lo es la cultura Mayo, Seri y Yaqui en el noroeste del país. Estas comunidades contienen en sus conocimientos de medicina tradicional una extensa variedad de diferentes especies de plantas regionales, las cuales son utilizadas como remedios para tratar diferentes enfermedades, malestares, heridas y picaduras de animales e insectos ponzoñosos. El uso de cada una de las plantas varía según su objetivo, estas preparaciones van desde la elaboración de tés, infusiones, extracción de aceites, o simplemente con el hecho de masticar o comer sus frutos, hojas o alguna parte de la planta; lo que conlleva a cumplir con los objetivos señalados por el curandero (Yetman y Van Devender, 2002).

En la medicina tradicional existen diversas especies de plantas donde se les señala el uso contra el cáncer, dentro la etnofarmacopea Mayo se apunta a plantas con actividad anticancerígena como *Lophocereus schottii* (sinita), *Opuntia sp.* (bachata) y *Ziziphus*

obtusifolia (ciruela del monte, huichilame) por mencionar algunas (Yetman y Van Devender, 2002).

Existen medicamentos contra el cáncer que se han aislado de plantas; donde destacan la purificación del Paclitaxel extraído de la planta *Taxus breviflora* en un proyecto de 1971 a 1978 por parte del National Cancer Institute de los Estados Unidos, y la Vinblastina que es un derivado de los principios activos de *Catharanthus roseus*, utilizado para tratar cáncer testicular, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin entre otras enfermedades (Quispe, 2006; Yetman y Van Devender, 2002).

Metabolismo de la Plantas

El metabolismo se conforma por una serie de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para degradar sustancias complejas y a partir de ellas obtener energía convirtiéndolas en sustancias más simples, así como para sintetizar compuestos complejos a partir de moléculas sencillas. Las plantas, organismos autótrofos, poseen un metabolismo primario el cual se encarga de producir moléculas que cumplen un rol fundamental en la fotosíntesis, respiración, crecimiento y desarrollo de la propia planta; además de realizar el metabolismo primario presente en todos los organismos vivos, tienen la capacidad de realizar un metabolismo secundario que les permite sintetizar y almacenar compuestos de diversa naturaleza química, compuestos que son llamados metabolitos secundarios (Ávalos y Pérez-Urria, 2009; Crozier y col., 2006).

Metabolitos secundarios. Los compuestos producidos por el metabolismo secundario tienen un gran interés en la industria debido a sus usos como aceites, agentes aromatizantes, ceras, colorantes, fibras, medicamentos y perfumes. Además son vistos como fuentes potenciales de nuevas drogas de origen natural, así como antibióticos insecticidas y herbicidas. Los metabolitos secundarios tienen una amplia gama de estructuras químicas diferentes, las cuales han sido clasificadas en varios grupos que

dependen según su origen biosintético: compuestos fenólicos, compuestos sulfurados, terpenos, alcaloides, acetilenos y psoralenos (Crozier y col., 2006).

Compuestos fenólicos. Los compuestos fenólicos están comprendidos en dos grandes grupos: flavonoides y no flavonoides. Los flavonoides son el grupo de compuestos que se encuentra en abundancia en frutas y vegetales. Su estructura básica comprende quince carbonos distribuidos en dos anillos aromáticos conectados por un puente de tres carbonos [Figura 1] (Crozier y col., 2006).

El grupo de los flavonoides son conocidos por su potente efecto antioxidante; los sustituyentes dihidroxílicos en la posición 3' y 4' en el anillo B son los más activos como antioxidantes, el efecto se potencia cuando se encuentra una ligadura en los carbonos 2 y 3, un grupo hidroxilo libre en la posición 3 y grupo carbonilo en la posición 4 como sucede con la quercetina. Los flavonoides también inducen mecanismos que matan a células cancerosas e inhiben la proliferación celular, inhiben la progresión y desarrollo del cáncer por los polifenoles que modulan vías de señalización, activan señales de muerte celular induciendo la apoptosis en células malignas y pre-cancerosas (Hertzog y Oana-Sorina, 2012; Zavaleta y col., 2005).

Dentro de los compuestos pertenecientes a los no flavonoides entra una gran variedad de metabolitos con estructura química variable. Sin embargo, destacan moléculas con gran actividad antioxidante como son el ácido cafeico, derivado del ácido hidroxicinámico; utilizados en investigación como estándar en los ensayos de actividad antioxidante (Zavaleta y col., 2005).

Compuestos sulfurados. Los compuestos sulfurados son aquellos que comprenden un amplio número de sustancias, generalmente dentro proteínas y complejos proteicos que han ido evolucionando junto con la planta como método de defensa contra los animales herbívoros; como lo es el sistema glucosinolato-mirosinasa que hidrolizan moléculas de glucosinolato, el cual genera un producto que irritan las mucosas del herbívoro. Sin

embargo, existen estudios epidemiológicos que indican que el consumo de plantas ricas en compuestos sulfurados provee beneficios a la salud, particularmente respecto a reducir el riesgo de contraer cáncer, esto se debe a que cuando los compuestos sulfurados son el metabolito secundario predominante en los vegetales, éstos contienen una cantidad considerable de agua y vitaminas solubles en lípidos, minerales y otros metabolitos secundarios, como lo son los flavonoides y cinamatos (Crozier y col., 2006).

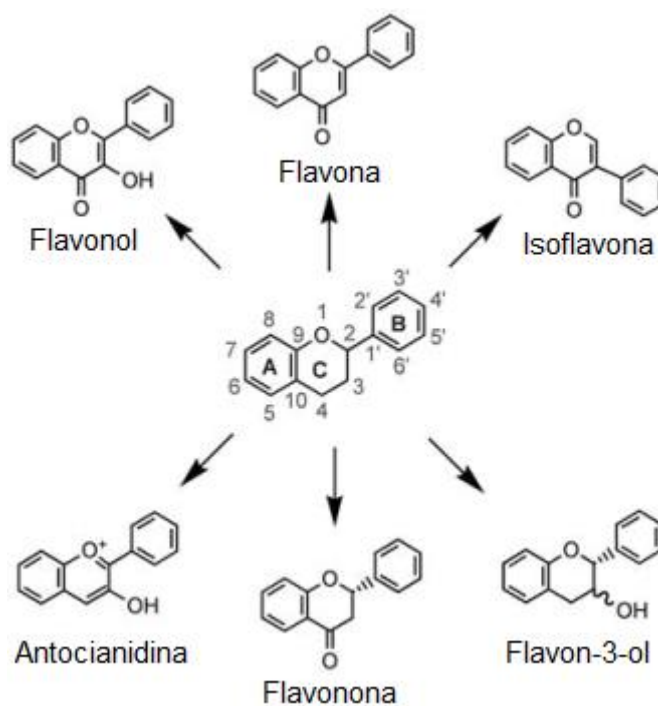


Figura 1. Estructuras generales de los principales flavonoides (Crozier y col., 2006).

Terpenos. Los terpenos o isoprenoides son uno de los grupos con más diversas clases de metabolitos, donde se enlistan alrededor de 30,000 isoprenoides, que dependiendo del origen de la planta encontramos sabores, fragancias, antibióticos, hormonas de plantas y animales, mediadores del esencial transporte de electrones, entre otros. Esto es debido a la variable cantidad de formas estructurales que le permite formar el esqueleto base de los terpenos. En 1971 se determinó la estructura de un compuesto aislado del tejo del pacífico (*Texus brevifolia*) con una base estructural diterpenoide, el Paclitaxol (Taxol) [Figura 2], pero

no fue hasta 1979 que se determinó su mecanismo de acción anticancerígeno (CCO, 2013; Crozier y col., 2006).

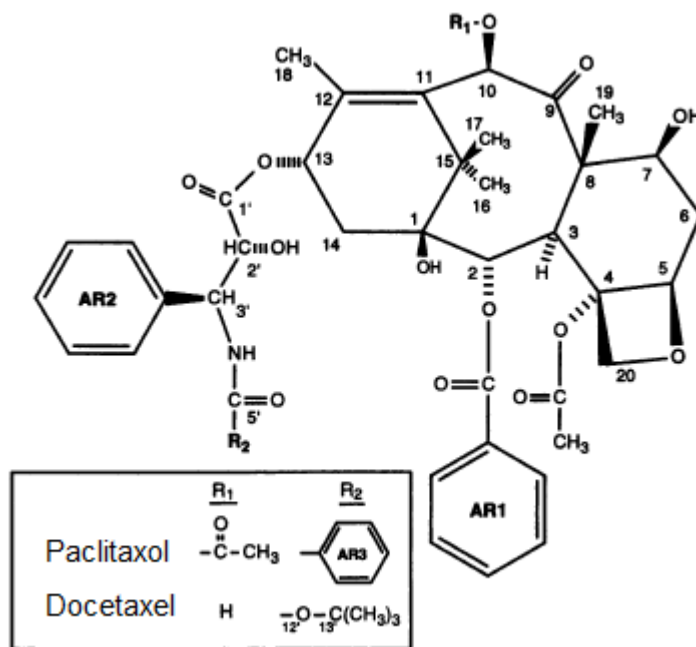


Figura 2. Estructura química del paclitaxol y docetaxel (Mastropaolo y col., 1995).

El paclitaxol juega dos papeles importantes como agente anticancerígeno, primeramente estabilizando los microtúbulos ensamblados de la célula impidiendo el proceso de mitosis, y en segundo lugar inhibe la proteína llamada Bcl-2 la cual permite la acción de la mitosis (Amos y Löwe, 1999).

Alcaloides. Los alcaloides son los metabolitos secundarios sintetizados generalmente a partir de aminoácidos, encontrándose solo en cerca del 20% de las especies de plantas. Estos metabolitos secundarios juegan un papel importante como método de defensa contra los herbívoros y patógenos de las plantas. Debido a su gran potencial biológico, cerca de 12,000 alcaloides han sido utilizados como agentes farmacéuticos, estimulantes, narcóticos y venenos. Los alcaloides derivados de las plantas siguen siendo utilizados en la clínica

como analgésicos, en el caso de la morfina y el muy conocido agente anticancerígeno vinblastina [Figura 3], alcaloide la de *Vinca rosea* (Crozier y col., 2006; Filaxis, 1999).

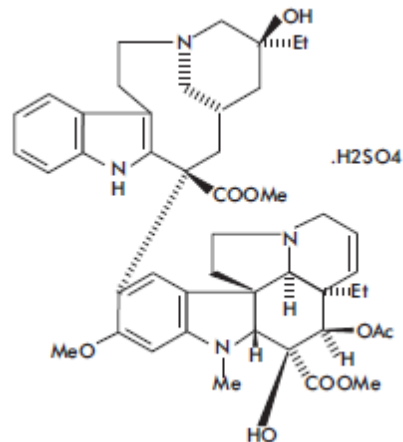


Figura 3. Estructura molecular del sulfato de vinblastina (Filaxis, 1999).

La vinblastina bloquea la mitosis deteniendo el ciclo celular en la etapa de metafase, lo que lo hace, ciclo celular específico para la fase M de la división celular; también puede interferir en el metabolismo de los aminoácidos (Filaxis, 1999).

Acetilenos y psoralenos. Los acetilenos y psorales son los clásicos ejemplos de metabolitos secundarios que no queremos encontrar en las plantas que consumimos debido a sus efectos tóxicos, Algunos acetilenos son conocidos por ser neurotóxicos en altas concentraciones y fuertes irritantes de la piel. Los compuestos como los acetilenos cumplen un rol importante en el mecanismo de defensa de la planta contra sus depredadores ya que son considerados pesticidas naturales. En cambio los psoralenos han sido utilizados para tratar desórdenes de la piel, sin embargo, hoy se conoce que el uso de estos compuestos incrementa la incidencia de padecer cáncer de piel, debido a que, en numerosos estudios se ha demostrado que los psoralenos pueden ser agentes mutagénicos y carcinógenos (Crozier y col., 2006).

Características y Propiedades Medicinales de *Acacia cochliacantha* y *Acacia constricta*

En el noroeste de México las diferentes especies del género *Acacia* pertenecientes a la familia *Fabaceae* tienen diversos y variados usos por las tribus indígenas regionales, que van desde el empleo industrial aprovechando sus recursos como la madera, hasta el medicinal utilizando diferentes partes de la planta en la preparación de extractos, infusiones o tés para su uso terapéutico.

Acacia cochliacantha. Llamada “huinolo”, “chirahui” o “vinolo”, es un árbol frondoso, extremadamente común en zonas de Etchojoa, Sonora, que alcanza una altura de aproximadamente ocho metros; en la medicina Mayo se utilizan las hojas y flores en forma de té para tratar problemas de próstata, urinarios, musculares, hipotermia en niños y para cambiar la posición fetal cuando una madre está a punto de parir (Yetman y Van Devender, 2002).

Acacia constricta. Tiene la característica de ser un arbusto abierto, de dos a cuatro metros de alto, las ramas pequeñas tienen espinas de dos a cinco centímetros de largo y sus vainas lineares con un ligero curvado son comprimidas entre las semillas con un color café rojizo. Se puede encontrar en lugares de Etchojoa, Sonora. En la medicina tradicional del estado de Sonora se elabora un té con las hojas y las semillas machacadas como remedio para trastornos estomacales y diarrea.

Recientes investigaciones han demostrado que extractos de *Acacia pennatula* colectadas en el centro y sur de México tienen fuerte actividad citotóxica contra líneas celulares cancerosas como KB (carcinoma nasofaríngeo) y UISO-SQC-1 (carcinoma escamoso de cérvix). Es por esto que las plantas *Acacia cochliacantha* y *A.constricta* colectadas en la región del noroeste de México se les determinó su actividad antiproliferativa por el método MTT tratando de buscar homología de moléculas entre

especies, al mismo tiempo en el que se evaluó su actividad antioxidante por el método ABTS y DPPH (Popoca y col., 1997).

Características y Propiedades Medicinales de *Bursera hindsiana*, *B. laxiflora* y *B. microphylla*.

El género *Bursera* pertenece a la familia *Burseraceae*, las plantas de esta familia son muy utilizadas en el noroeste de México para la fabricación de artículos de madera como, máscaras, utensilios y tazones. En la medicina las diferentes especies de *Bursera* tienen usos particulares que dependen de la enfermedad a combatir, es decir, dependiendo del mal a tratar se selecciona una planta en particular.

***Bursera hindsiana*.** El “torote prieto” es un árbol pequeño nativo de la zona sur de Sonora y norte de Sinaloa que alcanza hasta 3.5 metros de altura, su corteza es gris rojiza, con ramas fuertes donde las hojas crecen principalmente en sus puntas de simples, trifoliadas o raramente con cinco o siete folículos. Estas plantas se encuentran generalmente en arroyos y pendientes desérticas. Para fines medicinales se prepara un té con pedazos pequeños de la madera de los tallos con puntas de ramas de salvia *Hyptis emoryi* para tratar el asma (López y Hinojosa, 1988).

***Bursera laxiflora*.** También llamado “torote prieto” al igual que *Bursera hindsiana* es un arbusto pequeño que crece en Etchojoa, Sonora; cuando la planta crece entre un bosque tropical alcanza el tamaño de un árbol. Los usos de *Bursera laxiflora* van desde el artesanal en la fabricación de cucharas, máscaras y bandejas, hasta el medicinal con el uso de la corteza para preparar un té como remedio para la tos (Yetman y Van Devender, 2002).

Bursera microphylla. Llamado coloquialmente “torote blanco”, es un árbol con una altura de seis a ocho metros de alto con copa redonda, color rojo cereza con corteza exfoliada del tronco, hojas pinnadas de tres a ocho centímetros de largo o más. Para los remedios medicinales se utilizan las hojas, corteza interior, fruto y la savia. Por ejemplo; para secar el cordón umbilical se colocan hojas de la planta mientras este se está secando, para eliminar los piojos se tritura el fruto y se mezcla con orégano *Lippia palmeri* para ser cocinados en agua, después se mezcla con shampoo para su uso en el baño, para evitar que las cicatrices de la cara se tornen más oscuros se aplica la savia sobre las heridas, se sigue el mismo procedimiento para evitar infecciones en lesiones sobre la cabeza (López y Hinojosa, 1988).

Extractos de la corteza de *Bursera fagoroides* muestran una fuerte actividad citotóxica contra las líneas celulares KB (carcinoma nasofaríngeo), HF-6 (cáncer de colon), MCF7 (cáncer de mama) y PC-3 (cáncer de próstata) donde la IC₅₀ nunca es mayor de 10 µg/mL sobre las cuatro líneas celulares cancerosas (Rojas-Sepúlveda y col., 2012). Se seleccionaron las plantas *Bursera hindsiana*, *B. laxiflora* y *B. microphylla* en la búsqueda de mayor actividad antiproliferativa que *Bursera fagoroides*, ya que la plantas seleccionadas son más utilizadas en la medicina tradicional que *B. fagoroides*, además se determinaron sus respectivas actividades antioxidantes. Se utilizó el extracto metanólico de la corteza de *Bursera laxiflora* ya que la corteza de la planta es la más utilizada por la medicina tradicional. En cambio para *Bursera hindsiana*, se empleó la resina, pues bien, en ella se encuentran concentrados los compuestos orgánicos que fluyen por la madera. Para *Bursera microphylla* se trabajó con la resina por ser administrada directamente como remedio de curación (Purata, 2008; Yetman y Van Devender, 2002; López y Hinojosa, 1988).

Características y Propiedades Medicinales de *Jacquinia macrocarpa* spp *pungens*

En la medicina tradicional Mayo la única planta de la familia *Theophrastaceae* utilizada es *Jacquinia macrocarpa* ssp *pungens* conocida como “tásiro” o “sanjuanico” por los pobladores de la región. Este árbol pequeño que puede llegar a alcanzar los seis metros de altura tiene un color de corteza gris oscuro y una corona densa de hojas verde oscuro, se

encuentra en llanuras y cerros áridos en diferentes regiones de Sonora. Como remedio medicinal se utiliza la flor macerada en agua para la deshidratación, para el dolor de pulmones se cuecen las cascara del fruto para beberse el cocimiento, para los mareos se lava la cara con infusión de flores, esa misma infusión funciona para el dolor de oído aplicándolo en gotas (Yetman y Van Devender, 2002; López y Hinojosa, 1988).

En recientes investigaciones se evaluó la actividad antiproliferativa de *Jacquinia albiflora* contra las líneas celulares KB (carcinoma nasofaríngeo), Hep-2 (carcinoma de laringe), HeLa (adenocarcinoma de cérvix), SiHa (carcinoma escamoso de cérvix) y MDCK (célula normal de riñón canino) mostrando fuerte actividad antiproliferativa contra las líneas celulares cancerosas. Estos estudios indican que las plantas del género *Jacquinia* tienen la capacidad de producir sustancias con actividad antiproliferativa contra líneas células cancerosas. Es por ello, que para este estudio se evaluó la actividad antioxidante y antiproliferativa de la planta *Jacquinia macrocarpa ssp pungens*, tanto el extracto metanólico de las partes aéreas (hojas y flores) como el extracto metanólico de la cascara del fruto por separado, esto es, debido a que tanto las partes aéreas y la cascara del fruto se utilizan por separado en la medicina tradicional Mayo. (Moo-Puc y col., 2013; Yetman y Van Devender, 2002).

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de Resinas y Extractos Metanólicos

Las resinas de *Bursera hindsiana* y *Bursera microphylla* fueron colectadas en la región de Bahía de Kino, Sonora en México.

Los extractos metanólicos fueron obtenidos a partir de las partes aéreas de *Acacia cochliacantha*, de *Acacia constricta*, y de *Jacquinia macrocarpa ssp pungens*, la corteza de *Bursera laxiflora* y las cáscaras del fruto de *Jacquinia macrocarpa ssp pungens*. El material vegetal fue secado a temperatura ambiente, posteriormente se molió en un molino tipo Wiley, y se dejó reposar en metanol (1:10 p/v) durante 10 días con periodos regulares de agitación. La solución metanólica se sometió a filtración para posteriormente secarla a presión reducida a una temperatura de 45°C en un rotavapor. El extracto crudo resultante se secó a temperatura ambiente y fue almacenado en recipientes color ámbar a -4°C hasta su uso posterior (Jiménez-Estrada y col., 2013).

Capacidad Estabilizadora de Radicales Libres

La actividad antioxidante se relaciona con compuestos capaces de neutralizar radicales libres dentro de los sistemas biológicos con objeto de protegerlos de las reacciones y procesos dañinos que estos puedan llevar a cabo dentro del organismo. Estos efectos protectores de los antioxidantes han recibido gran importancia en los campos biológicos, médicos y nutricionales, es por eso que se dio lugar a la existencia de métodos para determinar la capacidad antioxidante de sustancias y compuestos.

Para fines de esta investigación los extractos metanólicos y las resinas fueron disueltos en etanol absoluto en concentraciones seriadas de 12.5 a 200 $\mu\text{g/mL}$. Para ambos métodos de evaluación de actividad antioxidante, cada concentración fue evaluada 3 veces por día en un periodo de 3 días con el fin de corroborar reproducibilidad en los experimentos.

Capacidad Reductora del Radical ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium)

El compuesto 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium (ABTS) es un sustrato de la peroxidasa que cuando se oxida por los radicales peróxido u otros oxidantes en la presencia de H_2O_2 se produce un catión radical $\text{ABTS}^{\cdot+}$, el cual presenta un color verde intenso y puede ser monitoreado por espectrofotometría en un intervalo de longitud de onda de 600-750 nm. Al reaccionar el catión $\text{ABTS}^{\cdot+}$ con un antioxidante, éste es neutralizado por la donación de un electrón por parte del antioxidante, cambiando de esta manera la estabilidad del radical y decolorando la solución verde característica (Karadag y col., 2009; ZENBIO, 2010).

El método para evaluar la actividad antioxidante por el método colorimétrico ABTS consiste en una primera etapa en la preparación del radical, para ello se disolvieron 19.3 mg de ABTS en 5 mL de agua destilada, se le adicionó 88 μL de una solución 140 μM de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (persulfato de potasio) y se dejó reposar por 16 horas en oscuridad a temperatura ambiente. Después se preparó la solución en etanol hasta alcanzar una absorbancia de 0.7 a una longitud de onda de 730 nm. Se colocaron 295 μL de la solución en una placa de 96 pozos, al cual se le añadió 5 μL del stock de etanol de los extractos y resinas, se dejó reposar por 5 minutos a temperatura ambiente para ser leída en un lector de ELISA (BMG LABTECH's POLARstar Omega) usando una lectura a una longitud de onda de 730 nm. Se realizó el mismo procedimiento para obtener una recta del antioxidante Trolox (SIGMA-ALDRICH) como control y para calcular los resultados en microgramos equivalentes a trolox ($\mu\text{gET/mL}$) (Kuskoski y col., 2004).

Capacidad Reductora del Radical Libre DPPH (2,2-difenil-1-picrihidrazil)

El radical 2,2-difenil-1-picrihidrazil (DPPH) tiene la característica de presentar un electrón desapareado en su estructura lo cual hace, junto con sus características moleculares, presentar un color púrpura con una absorbancia máxima en la longitud de onda de 515 a 517 nm en el espectrofotómetro. Esta característica desaparece cuando el compuesto al que ha sido expuesto el DPPH le dona un hidrógeno estabilizando la estructura del radical a DPPH-H, tornando un color amarillo en solución (Tirzitis y Bartosz, 2010).

El reactivo DPPH (SIGMA-ALDRICH) fue disuelto en metanol (MeOH) y ajustado a una absorbancia de 0.7 a 515 nm. En una placa de 96 pozos se le colocaron 280 μ L de la solución DPPH/MeOH y se le añadió a cada pozo 20 μ L de las muestras (volumen final 300 μ L), después se dejó reposar la reacción por un tiempo de 30 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. Por último la placa fue leída a una longitud de onda de 515 nm en un lector de placas de ELISA (BMG LABTECH's POLARstar Omega). Se realizó el mismo procedimiento para obtener una curva de calibración del antioxidante Trolox (SIGMA-ALDRICH) como control y para calcular los resultados en microgramos equivalentes a trolox (μ gET/mL) (Meléndez y col., 2014).

Cultivo Celular

Las líneas celulares L-929 (tejido conectivo subcutáneo murino normal) y HeLa (carcinoma humano de cérvix) fueron obtenidas por parte de la American Type Culture Collection (ATCC), las líneas celulares A594 (carcinoma alveolar humano), M12A^k.C3.F6 (linfoma de células B murinas) y RAW 264.7 (leucemia de macrófagos transformadas por el virus de Albenson) fueron proporcionadas por el Dr. Emil R. Unanue del Departamento de patología e Inmunología de la Universidad de Washington.

Todas las células fueron cultivadas en el medio de cultivo Dulbecco's Eagle's modificado (DMEM) suplementado al 5% con suero fetal bovino (SFB), en una atmósfera del 5% de CO₂ a 37°C (Jiménez-Estrada y col., 2013).

Medición de la Viabilidad Celular Mediante el Ensayo MTT

El ensayo 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) se basa en la reducción metabólica realizada por la mitocondria sobre este compuesto por la enzima succinato-deshidrogenasa formando un compuesto coloreado llamado formazan. De esta manera se determina la funcionalidad de las mitocondrias de las células tratadas. La cantidad de células vivas es proporcional a la cantidad de formazan producido (Mosmann, 1983).

Para evaluar la actividad antiproliferativa de las muestras, los extractos metanólicos y las resinas fueron disueltos en dimetilsulfoxido (DMSO [SIGMA-ALDRICH]) a una concentración de 40 mg/mL. De esta solución se tomaron 10 µL y se disolvieron en 990 µL del medio de cultivo DMEM 5% SFB para obtener una concentración final del extracto de 400 µg/mL. A partir de esta solución se realizaron diluciones seriadas a concentraciones de 400 µg/mL a 25 µg/mL. Una vez realizadas las soluciones de las muestras se preparó una suspensión de células con 200,000 cel/mL que se distribuyó en una placa de 96 pozos colocándole 50 µL a cada fosa de la placa de ELISA. Se incubó la placa con 10,000 células por pozo en condiciones de cultivo por un tiempo de 24 horas. Después de haber transcurrido el tiempo, se le añadió a cada pozo 50 µL de cada dilución de las muestras, se dejó incubar en condiciones de cultivo por 48 horas con observaciones periódicas al microscopio en lapsos de 24-48 horas. Después de haber hecho las observaciones pertinentes en un lapso de 48 horas, se realizó un lavado a la placa con una solución de soporte de fosfatos (PBS) 1X (excepto a las células M12A^k.C3.F6) y se añadió nuevamente 100 µL de medio DMEM 5% SFB. Posteriormente se agregaron 10 µL de una solución de MTT de 5 mg/mL de PBS 10X, que se dejó reposar por 4 horas en condiciones de cultivo. Una vez concluido el tiempo de reposo, los cristales de formazán formados se resuspendieron en 100 µL de isopropanol

acidificado para ser leídos en un lector de placas de ELISA (Benchmark microplate reader: Bio-Rad: Hercules CA. USA) a una longitud de onda de 570 nm y otra de 630 nm como referencia. Se utilizó como control concentraciones de DMSO de 0.01-0.5% sobre las células que no mostraron ningún tipo de daño celular (Jiménez-Estrada y col., 2013).

Índice de Selectividad

El índice de selectividad de los extractos y resinas, se define como la relación de susceptibilidad a la inhibición del crecimiento entre la línea celular normal y la línea celular cancerosa: IC_{50} (línea celular normal) / IC_{50} (línea celular cancerosa), el cual es >1 cuando el extracto o resina es más selectivo hacia la línea cancerosa, y <1 cuando la línea celular más susceptible es la control (Callacondo-Riva y col., 2008).

Análisis y Diseño Experimental

Se realizó un estudio experimental de tipo descriptivo; para cada extracto y resina se realizaron estudios de actividad antioxidante por los métodos del ABTS y DPPH en concentraciones seriadas, en cada uno de los métodos se realizaron tres experimentos independientes, esto con el objetivo de obtener reproducibilidad en la prueba y obtener el resultado en un promedio \pm su desviación estándar, se utilizó el antioxidante trolox para obtener una curva de calibración de actividad antioxidante dependiente de concentración para calcular los resultados de la actividad antioxidante de cada muestra en $\mu\text{gET/mL}$. Para evaluar la actividad antiproliferativa por el método del MTT se realizaron tres experimentos independientes a concentraciones seriadas de cada planta, se calculó el porcentaje de actividad antiproliferativa de cada experimento para obtener un promedio, posteriormente se utilizaron esos resultados para calcular la IC_{50} (mínima concentración requerida para inhibir el 50% de la proliferación celular) de cada muestra sobre la respectiva línea celular \pm su desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención de Resinas y Extracción Metanólica de las Muestras

Se logró obtener 100 g de resina de *Bursera microphylla* y 10 g de *Bursera hindisiana* al realizar cortes longitudinales en la corteza de los árboles correspondientes a través de un tiempo de 25 a 30 días dependiendo del tamaño de la planta.

La extracción metanólica se realizó a partir de 20 g de cada muestra; se pesó el extracto crudo obtenido de cada espécimen y se calculó su rendimiento porcentual como lo muestra la Tabla 2.

Actividad Antioxidante Método ABTS

En la Tabla 3, se muestran los resultados de actividad antioxidante de los extractos metanólicos y resinas. En ésta se puede observar una actividad antioxidante dependiente de concentración en dos de las seis plantas evaluadas; siendo *Bursera laxiflora* aquella que presentó la máxima actividad antioxidante registrando 105.8 $\mu\text{gET/mL}$ a la concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$ y 28.7 $\mu\text{gET/mL}$ a 12.5 $\mu\text{g/mL}$; el extracto metanólico de *Acacia cochliacantha* mostró la segunda mejor actividad antioxidante dosis dependiente con valores de 63.7 $\mu\text{gET/mL}$ a 18.8 $\mu\text{gET/mL}$ a concentraciones seriadas de 200 $\mu\text{g/mL}$ a 12.5 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. El resto de los extractos mostraron actividades antioxidantes similares en todas las concentraciones estudiadas. Se muestra la curva de calibración de antioxidante por equivalentes trolox en el Anexo I.

Son pocos los estudios de actividad antioxidante por el método ABTS realizados a las plantas del género *Acacia*, *Bursera* y *Jacquinia*. No obstante, existen investigaciones

enfocados a plantas y frutas comestibles que se caracterizan por aportar grandes cantidades de antioxidantes a la dieta. Estudios de la actividad antioxidante de las frutas de guayaba por el método ABTS, indican que el extracto metanólico de la variedad comercial allahabad safeda tiene actividad antioxidante de 39.7 μ MET/g (Thaipong y col., 2006); en comparación con la actividad antioxidante de *Bursera laxiflora* a 200 μ g/mL esta es de 105.8 μ gET/mL, lo que equivale a 2123.55 μ MET/g; indicando que extracto metanólico de la corteza de *Bursera laxiflora* tiene 53.5 más contenido antioxidante que el extracto metanólico de la fruta de guayaba variedad comercial allahabad safeda. Sin embargo hay que tener en cuenta que en la generación del extracto metanólico el rendimiento de cada muestra puede variar significativamente.

Tabla 2. Obtención y rendimiento de los extractos metanólicos.

Planta	Muestra	Peso	Extracto obtenido	Rendimiento
<i>Acacia cochliacantha</i>	Partes aéreas	20 g	2.25 g	11.25 %
<i>Acacia constricta</i>	Partes aéreas	20 g	2.08 g	10.04 %
<i>Bursera laxiflora</i>	Corteza	20 g	2.25 g	11.25 %
<i>Jacquinia macrocarpa spp</i>	Partes aéreas	20 g	1.56 g	7.8 %
<i>pungens</i>	Cáscara de fruto	20 g	2.04 g	10.2 %

Actividad Antioxidante Método DPPH

En la Tabla 4, se observan los resultados de actividad antioxidante por el método DPPH donde se muestran equivalencias a trolox dependientes de la concentración en dos de las seis plantas expuestas al radical; *Bursera laxiflora* fue quien presentó la mayor actividad registrando valores que van de 95.0 μ gET/mL a 3.7 μ gET/mL a concentraciones seriadas de 200 μ g/mL a 12.5 μ g/mL, y *Acacia cochliacantha* fue la segunda planta en mostrar estas

características exponiendo una actividad antioxidante de 41.5 $\mu\text{gET/mL}$ a 0.0 $\mu\text{gET/mL}$ a las mismas concentraciones. Las muestras restantes presentaron resultados constantes en $\mu\text{gET/mL}$. Se muestra la curva de calibración de antioxidante por equivalentes trolox en el Anexo II.

Tabla 3. Actividad antioxidante de extractos metanólicos y resinas de seis plantas medicinales por el método ABTS expresado en $\mu\text{gET/mL}$.

Planta	Concentración en $\mu\text{g/mL}$ *				
	200	100	50	25	12.5
<i>Acacia cochliacantha</i>	63.7 \pm 11.4	41.7 \pm 11.9	24.1 \pm 3.2	22.0 \pm 3.1	18.8 \pm 2.8
<i>Acacia constricta</i>	26.8 \pm 3.0	22.7 \pm 4.5	21.3 \pm 2.3	19.4 \pm 3.3	17.9 \pm 3.9
<i>Bursera hindsiana</i>	22.9 \pm 11.6	22.0 \pm 11.4	17.1 \pm 4.5	17.7 \pm 5.3	17.6 \pm 4.0
<i>Bursera laxiflora</i>	105.8 \pm 5.3	63.9 \pm 2.3	41.2 \pm 2.8	30.6 \pm 4.1	28.7 \pm 1.1
<i>Bursera microphylla</i>	20.5 \pm 4.9	20.1 \pm 4.2	18.7 \pm 4.0	19.0 \pm 6.1	18.4 \pm 4.4
<i>Jacquinia macrocarpa</i> <i>ssp pungens</i> (cáscara fruto)	24.7 \pm 6.1	21.3 \pm 8.0	18.1 \pm 9.1	16.9 \pm 7.5	15.6 \pm 8.5
<i>Jacquinia macrocarpa</i> <i>ssp pungens</i> (partes aéreas)	26.2 \pm 5.4	21.7 \pm 7.6	18.2 \pm 6.8	17.6 \pm 7.9	16.7 \pm 7.7

*Los valores obtenidos representan un promedio de tres experimentos independientes \pm su desviación estándar.

A pesar de que el extracto metanólico de *Bursera laxiflora* presentó la mayor actividad antioxidante de las seis plantas evaluadas con un valor de 95.0 $\mu\text{gET/mL}$ a 200 $\mu\text{g/mL}$, las resinas de *Bursera hindsiana* y *Bursera microphylla* no mostraron actividad antioxidante a 200 $\mu\text{g/mL}$ por el método DPPH. Sin embargo, en un reciente estudio realizado sobre la fase metanólica de la planta *Bursera morelensis* se señala que posee una IC_{50} de 3.05 $\mu\text{g/mL}$ (Serrano y col., 2011); para fines de comparación los 95.0 $\mu\text{gET/mL}$ de *Bursera*

laxiflora a la máxima concentración evaluada, equivalen a una inhibición del 85.97 % del radical DPPH; como se observa al comparar este valor en el Anexo II. La IC₅₀ que le corresponde a *Bursera laxiflora* es de 102.03 µg/mL; estos resultados indican que no todas las plantas del género *Bursera* poseen actividad antioxidante o bien los componentes responsables de la actividad antioxidante no se encuentran en la resina que fluye por la planta.

Tabla 4. Actividad antioxidante de extractos metanólicos y resinas de seis plantas medicinales por el método DPPH expresado en µgET/mL.

Planta	Concentración en µg/mL*				
	200	100	50	25	12.5
<i>Acacia cochliacantha</i>	41.5 ± 0.3	20.4 ± 1.6	8.6 ± 1.1	2.0 ± 1.3	0.0
<i>Acacia constricta</i>	2.2 ± 1.5	0.2 ± 2.4	0.7 ± 2.5	0.0	0.0
<i>Bursera hindsiana</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Bursera laxiflora</i>	95.0 ± 0.7	47.8 ± 0.7	23.6 ± 0.8	7.4 ± 0.2	3.7 ± 0.6
<i>Bursera microphylla</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Jacquinia macrocarpa</i> <i>ssp pungens</i> (cascara fruto)	5.9 ± 2.4	0.04 ± 2.2	0.0	0.0	0.0
<i>Jacquinia macrocarpa</i> <i>ssp pungens</i> (partes aéreas)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

*Los valores obtenidos representan un promedio de tres experimentos independientes ± su desviación estándar.

El extracto metanólico de las partes aéreas de *Acacia cochliacantha* fue la segunda mejor actividad antioxidante con 41.5 µgET/mL, mientras que *Acacia constricta* solo obtuvo 2.2 µgET/mL a la máxima concentración de 200 µg/mL por el método DPPH. En una investigación realizada en 2010 sobre el extracto metanólico de *Acacia nilotica* muestra que

posee una IC_{50} de 3.35 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sobre el radical DPPH (Agrawal y col., 2010); al comparar estos resultados en IC_{50} , tanto *Acacia cochliacantha* como *Acacia constricta* poseen una IC_{50} mayor de 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, ya que los valores de 41.5 $\mu\text{gET}/\text{mL}$ de *Acacia cochliacantha* y 2.2 $\mu\text{gET}/\text{mL}$ de *Acacia constricta*, representan menos del 50% de inhibición del radical DPPH como se observa al comparar estos valores con la curva de calibración de trolox por el método DPPH en el Anexo II. Esta comparación nos permite observar el contraste que existe entre la actividad antioxidante de plantas del mismo género, lo que indica que los componentes responsables de la actividad antioxidante pueden variar considerablemente entre las especies de plantas del mismo género.

Al compararse las tablas 3 y 4 se puede observar cierta variación en los resultados de actividad antioxidante por el método ABTS y DPPH, en ambos métodos se concuerda en que *Bursera laxiflora* y *Acacia cochliacantha* son las plantas que presentan la mayor actividad antioxidante de las seis plantas evaluadas, sin embargo, existe una variación en los resultados que se debe a la naturaleza del radical: ABTS es un radical catión que se reduce mediante la donación de electrón por parte del antioxidante, lo que genera una decoloración durante el ensayo el cual se puede cuantificar por espectrofotometría, esta característica intrínseca del radical hace que la reducción del mismo sea relativamente rápido (5 minutos) durante la exposición al antioxidante, y al mismo tiempo susceptible a cambios en su conformación química por factores externos como la temperatura y la luz. En cambio, el método del radical DPPH se basa en la donación de un protón para estabilizar a un electrón que se encuentra deslocalizado en toda la molécula, esta característica química del DPPH lo hace más estable y relativamente menos susceptible a factores extrínsecos como la temperatura y la luz, al mismo tiempo la reducción del radical es más lenta durante el ensayo (30 minutos) cuando se expone al agente antioxidante; esta diferencia entre ambos radicales hace que los experimentos evalúen dos características diferentes en cuanto el mecanismo de acción de los antioxidantes, por lo que el valor de los resultados puede variar de un método a otro (Meléndez y col., 2014; Zenbio, 2010).

Actividad Antiproliferativa Método MTT e Índice de Selectividad

En este estudio se determinó la actividad antiproliferativa sobre cuatro líneas celulares cancerosas (A549, HeLa, M12A^k.C3.F6 y RAW 264.7) y una línea celular no cancerosa (L-929). Los resultados de *Acacia cochliacantha* indican una ausencia de selectividad sobre las líneas celulares cancerosas, donde L929 fue de las más afectadas en este ensayo de proliferación. En cambio, en los datos de los ensayos de *Acacia constricta* se muestra una tendencia de IC₅₀ fluctuante de 110-117 µg/mL en todas las líneas celulares, a excepción de A549 donde la IC₅₀ no pudo ser detectada; esta relación de actividad antiproliferativa entre las dos especies de *Acacia* sugiere la posibilidad de que las moléculas involucradas en la actividad antiproliferativa en las distintas líneas celulares no sean las mismas; como se muestra en la relación de actividad antiproliferativa de la Tabla 5 y el índice de selectividad en la Tabla 6.

En trabajos previos a esta investigación se señala que la planta de nombre científico *Acacia pennatula* tiene una IC₅₀ de 10 µg/mL sobre la línea celular UISO-SQC-1 que pertenece a un carcinoma escamoso de cérvix humano, aunque no es el mismo cáncer al que pertenece la línea celular HeLa (carcinoma de cérvix humano), el origen del cérvix es el mismo y hay relación entre ambas líneas celulares. Al tomar estas líneas celulares como referencia, en la planta *Acacia cochliacantha* y *Acacia constricta* se marca una IC₅₀ de 164.7 µg/mL y 116.7 µg/mL respectivamente sobre la línea celular HeLa; este contraste de resultados entre las tres especies de *Acacia* y las dos líneas celulares de cáncer de cérvix sugieren que las tres especies de *Acacia* no generan de los mismos metabolitos secundarios responsables de la actividad antiproliferativa, o la producción del mismo es en diferentes proporciones entre las tres plantas (Popoca y col., 1997).

Al observar los resultados obtenidos en la tabla 5 y 6 por la resina de *Bursera hindsiana* se puede distinguir una variación de selectividad por las líneas celulares cancerosas al presentar una IC₅₀ mayor en L-929, esta variación de selectividad es mínima debido a la diferencia de microgramos de resina de las IC₅₀ entre las células cancerosas humanas (A549 y HeLa) y control murina (L-929). Las líneas celulares cancerosas murinas (M12A^k.C3.F6 y RAW 264.7) fueron más susceptibles a los componentes de la resina.

Tabla 5. Actividad antiproliferativa de extractos metanólicos y resinas de seis plantas medicinales.

Planta	IC ₅₀ de líneas celulares expresado en valores de µg/mL ^a				
	A549	HeLa	M12A ^k .C3.F6	RAW 264.7	L-929
<i>Acacia cochliacantha</i>	ND ^b	164.7±35	113.8±14.5	168.9±15.5	120.4±9.1
<i>Acacia constricta</i>	ND ^b	116.7±3.1	110.6±13.3	112.6±7.1	115.2±2.2
<i>Bursera hindsiana</i> ^c	91.0±5.6	95.3±2.4	60.4±4.7	58.7±2.3	96.8±1.3
<i>Bursera laxiflora</i>	198.2±7.4	93.7±5.4	98.0±3.2	117.4±1.5	ND ^b
<i>Bursera microphylla</i> ^c	53.8±1.4	13.8±1.4	26.0±2.1	21.9±3.1	39.3±0.9
<i>Jacquinia</i>					
<i>macrocarpa</i> ssp <i>pungens</i> (cascara fruto)	9.2±2.2	40.8±2.3	22.0±2.0	26.6±1.4	47.8±2.0
<i>Jacquinia</i> <i>macrocarpa</i> ssp <i>pungens</i> (partes aéreas)	45.4±0.6	85.5±4.4	45.0±2.0	47.7±0.6	87.2±4.0

^a Los valores reportados corresponden a un promedio de tres repeticiones ± su desviación estándar.

^b ND, IC₅₀ no detectada a la máxima concentración probada (200 µg/mL)

^c Resinas.

En el análisis de los datos arrojados por el extracto metanólico de la corteza de *Bursera laxiflora* en la actividad antiproliferativa de las cinco líneas celulares (A549, HeLa, M12A^k.C3.F6, RAW264.7 y L-929) es de interés especial; aunque no tiene las IC₅₀ más bajas de las muestras estudiadas, contiene IC₅₀ excelentes para tratarse de un extracto crudo; como lo hace con la línea celular HeLa con 93.7 µg/mL de IC₅₀, y la línea celular control (L-929) con una IC₅₀ no detectada a la máxima concentración probada de 200 µg/mL. En cambio, uno de los especímenes que expuso una fuerte actividad antiproliferativa sobre todas las líneas celulares incluyendo al control fue la resina de *Bursera microphylla*, donde la línea celular más resistente de las estudiadas fue A549 con una IC₅₀ de 53.8

µg/mL, en lugar de la línea celular normal L-929, con una IC₅₀ de 39.3 µg/mL. No obstante, los resultados obtenidos son alentadores al tratarse de una resina obtenida directamente de la planta, por lo que es factible seguir investigando los componentes que la integran. Si bien, estos datos no indican una semejanza entre las IC₅₀ de las tres especies de *Bursera*, cabe señalar la posibilidad de que exista un patrón de moléculas con el mismo carácter antiproliferativo en las muestras de *Bursera hindsiana* y *Bursera microphylla*, que no se encuentren en *Bursera laxiflora* como lo indica la relación entre las Tablas 3, 4, 5 y 6 si los compuestos de *Bursera laxiflora* involucrados en la actividad antiproliferativa son los mismos responsables de la actividad antioxidante.

Tabla 6. Índice de selectividad de extractos metanólicos y resinas sobre las líneas celulares cancerosas respecto a la línea celular control L-929.

Planta	Índice de selectividad ^{a, b, c}			
	A549	HeLa	M12A ^k .C3.F6	RAW 264.7
<i>Acacia cochliacantha</i>	<1	0.73	1.06	0.71
<i>Acacia constricta</i>	<1	0.99	1.04	1.02
<i>Bursera hindsiana</i> ^d	1.06	1.01	1.6	1.65
<i>Bursera laxiflora</i>	>1	>1	>1	>1
<i>Bursera microphylla</i> ^d	0.73	2.85	1.51	1.79
<i>Jacquinia macrocarpa</i> <i>ssp pungens</i> (cascara fruto)	5.2	1.17	2.17	1.8
<i>Jacquinia macrocarpa</i> <i>ssp pungens</i> (partes aéreas)	1.92	1.02	1.94	1.83

^a Relación de actividad antiproliferativa de las células cancerosas respecto a la línea celular control.

^b <1 Selectividad sobre línea celular normal.

^c >1 Selectividad sobre línea celular cancerosa.

^d Resinas.

Por parte del género *Bursera*, se ha estudiado a la planta *Bursera simaruba*, en ella se señala que posee una IC₅₀ de 170 µg/mL hacia la línea celular HeLa, en esta investigación los resultados de IC₅₀ de *Bursera hindsiana*, *Bursera laxiflora* y *Bursera microphylla* son de 95.3 µg/mL, 93.7 µg/mL y 13.8 µg/mL respectivamente; esta semejanza entre las cuatro especies del género *Bursera* indican una posible relación en la producción de los mismos metabolitos secundarios con actividad antiproliferativa sobre la línea celular HeLa, y se destaca la planta *Bursera microphylla* como la mejor productora de esta sustancia (Cates y col., 2013).

La mayor actividad antiproliferativa sobre las cinco líneas celulares (A549, HeLa, M12A^k.C3.F6, RAW 264.7 y L-929) se observó en el extracto metanólico de las cáscaras del fruto de *Jacquinia macrocarpa ssp pungens*, donde el control L-929 presentó la mayor resistencia sobre el extracto con una IC₅₀ de 47.8 µg/mL. Para el extracto metanólico de las partes aéreas de *J. macrocarpa ssp pungens* los resultados mostraron una tendencia semejante (con IC₅₀ más elevadas) al extracto de las cáscaras de su fruto, donde; la línea celular M12A^k.C3.F6 fue la más susceptible con IC₅₀ de 45 µg/mL, y 87.2 µg/mL la IC₅₀ de la línea celular L-929 como la más resistente al extracto. Esta posible relación de la tendencia de IC₅₀ sobre las líneas celulares entre el extracto crudo de las partes aéreas y la cáscara del fruto de *Jacquinia macrocarpa spp pungens* sugieren la posibilidad de que los compuestos relacionados a la actividad antiproliferativa sobre las líneas celulares sean los mismos, pero con mayor concentración en las cáscaras del fruto.

Entre los estudios de las plantas del género *Jacquinia*, se encuentra la evaluación de la actividad antiproliferativa de *Jacquinia albiflora*, en ella se detectó una IC₅₀ de 47.05 µg/mL sobre la línea celular HeLa a partir del extracto metanólico de sus hojas, este resultado es muy semejante al obtenido a partir del extracto metanólico de las cáscaras del fruto de *Jacquinia macrocarpa spp pungens* con una IC₅₀ de 40.8 µg/mL a diferencia de la IC₅₀ de 85.5 µg/mL del extracto metanólico de las partes aéreas de la misma planta. Esta relación en los resultados de la IC₅₀ indica la posibilidad de que las moléculas involucradas en la actividad antiproliferativa de la línea celular HeLa sean las mismas entre ambas especies del género *Jacquinia* (Moo-Puc y col., 2013); así como también pudiera existir una similitud entre las IC₅₀ del resto de las líneas celulares evaluadas (A549, M12A^k.C3.F6, RAW 264.7 y L-929).

El extracto metanólico de *Acacia cochliacantha* mostro buena actividad antioxidante tanto por el método ABTS y DPPH. Sin embargo, los resultados de actividad antiproliferativa hacen de la planta una fuente pobre de compuestos con actividad anticancerígena; esto es, que los compuestos responsables de la actividad antioxidante de *Acacia cochliacantha* posiblemente no seas de carácter antiproliferativo.

En los resultados obtenidos por la actividad antioxidante de *Acacia constricta*, se indica una pobre inhibición de los radicales ABTS y DPPH al que fue expuesto, indicando que los componentes con carácter antioxidante se encuentran en pequeñas trazas o su actividad sobre radicales libres es muy débil; así mismo, la actividad antiproliferativa que sufrieron las cinco líneas celulares al exponerlas al extracto, indican que los componentes responsables de la actividad antiproliferativa y antioxidante no sean los mismos y estos pueden ser inespecíficos contra líneas celulares cancerosas.

En los resultados obtenidos por el análisis de actividad antioxidante por el método ABTS y DPPH de las resinas de *Bursera hidsiana* y *Bursera microphylla*, las coloca como una fuente pobre de antioxidantes, sin embargo, los resultados que expusieron ante las cinco líneas celulares en la actividad antiproliferativa por el método MTT, los consideran como muestras ricas en sustancias antiproliferativas; esto contrasta entre los resultados de la actividad antioxidante y antiproliferativa, indicando que los compuestos responsables de la actividad antiproliferativa no tienen carácter antioxidante entre ambas especies de *Bursera*.

El extracto metanólico de la corteza de *Bursera laxiflora* fue un caso especial, en sus resultados se observa una actividad antiproliferativa moderada para la línea celular RAW 264.7; fuerte sobre HeLa y M12A^k.C3.F6; y débil para A549; lo que hace pensar en una especificidad sobre las líneas celulares cancerosas fue el no poder detectar la IC₅₀ de la línea celular L929 a las concentraciones trabajadas en el laboratorio; además, la fuerte inhibición que mostró sobre los radicales expuestos, hace destacar la posibilidad de que el o los componentes responsables de la actividad antiproliferativa tengan características antioxidantes.

El extracto metanólico de las cáscaras del fruto y partes aéreas de *Jacquinia macrocarpa ssp pungens* lograron demostrar ser una fuente rica en sustancias con carácter

antiproliferativo, ya que las IC_{50} de todas las líneas celulares (incluyendo al control L-929) no superaron los 50 $\mu\text{g/mL}$ en las cáscaras del fruto y 90 $\mu\text{g/mL}$ en las partes aéreas. En cambio, los resultados de la actividad antioxidante tanto por el método ABTS y DPPH señalan que ambas muestras son pobres en compuestos antioxidantes; pues bien, los resultados indican baja probabilidad de que las sustancias responsables de la actividad antiproliferativa sean de carácter antioxidante.

CONCLUSIONES

El extracto metanólico de la corteza de *Bursera laxiflora* mostró la mejor actividad antioxidante de las seis plantas estudiadas sobre los radicales ABTS y DPPH, además, mostró fuerte actividad antiproliferativa del tipo selectivo contra las líneas celulares A549, HeLa, M12A^k.C3.F6 y RAW 264.7 a las concentraciones evaluadas.

La resina de *Bursera hindsiana* presentó fuerte actividad antiproliferativa del tipo selectivo sobre las líneas celulares A549, HeLa, M12A^k.C3.F6, RAW 264.7.

La resina de *Bursera microphylla* mostró fuerte actividad antiproliferativa no selectiva contra las líneas celulares A549, HeLa, M12A^k.C3.F6, RAW 264.7 y L-929.

El extracto metanólico de las cáscaras de fruto de *Jacquinia macrocarpa spp pungens* exhibió fuerte actividad antiproliferativa del tipo selectivo contra las líneas celulares A549, HeLa, M12A^k.C3.F6, RAW 264.7 y L-929.

RECOMENDACIONES

Realizar las fracciones de acetato de etilo, etanol, hexano y residual de las resinas de *Bursera hindsiana* y *Bursera microphylla*, así como también el extracto metanólico *Bursera laxiflora*, y de las cáscaras del fruto y partes aéreas de *Jacquinia macrocarpa ssp pungen* para evaluar su actividad antiproliferativa sobre las líneas celulares A549, HeLa, M12A^k.C3.F6, RAW 264.7 y L-929.

En dado caso de encontrar fracciones activas sobre las líneas celulares, separar cromatográficamente fracciones activas y probar nuevamente la actividad de proliferación sobre dichas líneas celulares.

Caracterizar químicamente el o los compuestos activos mediante técnicas analíticas.

BIBLIOGRAFÍA

[ACS] American Cancer Society. 2014. Principios de radioterapia. 2014 Copyright American Cancer Society.

[ACS] American Cancer Society. 2013. Principios de la quimioterapia. 2013 Copyright American Cancer Society

Agrawal S, Kulkarni GT, Sharma VN. 2010. A Comparative Study on the Antioxidant Activity of Methanol Extracts of *Acacia nilotica* and *Berberis chitria*. Adv. in Nat. Appl. Sci., 4(1): 78-84.

Ahmedin J, Melissa M, Carol DeSantis, Elizabeth MW. 2010. Global patterns of cancer incidence and mortality rates. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 19(8);1893-907.

Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. 2002. Biología molecular de la célula. 3ra edición. Ediciones Omega S.A. Barcelona.

Amos LA, Löwe J. 1999. How Taxol® stabilises microtubule structure. 6(3):R65-R69.

Ávalos A, Pérez-Urria E. 2009. Metabolismo secundario de plantas. Reduca. 2(3):119-145.

Callacondo-Riva D, Quispe-Mauricio A, Lindo-Gamarra S, Vaisberg AJ. 2008. Actividad Citotóxica del Extracto Etanólico de *Gnaphalium spicatum* "KETO KETO" en Cultivos de Líneas Celulares Tumorales Humanas. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 25(4):380-85.

Cates RG, Prestwich B, Innes A, Rowe M, Stanley M, Williams S, Thompson A, McDonald S, Cates S, Shrestha G, Fuentes Soria JA, Espinoza LV, Ardón C, Galvez B, Díaz MR, Coronado FS, García JR, Arbizú DA, and Martínez JV. 2013. Evaluation of the activity of Guatemalan medicinal plants against cancer cell lines and microbes. Journ of Med Plants Res. 7(35):2616-2627.

CCO. 2013. PACLitaxel. CCO Formulary. 1-12.

Cerveira N, Bizarro S, and Teixeira MR. 2012. Cancer cell cycle. CanalBQ. 9:40-47

Crode MD. 2008. Molecular origins of cancer, oncogenes and cancer. N Engl J Med. 358:502:11.

Crozier A, Clifford MN, Ashihara H. 2006. Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the Human diet. Blackwell Publishing Ltd. 372p.

Dorado Martínez C, Rugerio Vargas C, Rivas Arancibia S. 2003. Estrés oxidativo y neurodegeneración. Rev Fac Med UNAM. 46(6):229-235.

- Filaxis. 1999. Vinblastina. Laboratorios filaxis. Versión: 08 03 - 09/99
- Halberstein RA. 2005. Medicinal Plants: Historical and Cross-Cultural Usage Patterns. *Ann Epidemiol.* 15(9):686–699
- Hertzog D, Oana-Sorina T. 2012. Molecular mechanisms underlying the anti-cancerous action of flavonoids. *Current Health Sciences Journal.* 38(4):145-149.
- [IDOH] Instituto Donostia de Onco-Hematología. 2011. La Quimioterapia y sus Efectos Secundarios Recomendaciones. Unidad de Comunicación Hospital Donostia. Depósito Legal: SS-401-2011.
- Ikal S. 2011. Principios de medicina indígena en la cosmovisión maya. *Tukari.* 3(6):10
- [INEGI] Instituto nacional de estadística y geografía. 2013. Estadísticas a propósito del día de muertos.
- Jiménez-Estrada M, Velázquez-Contreras C, Garibay-Escobar A, Sierras-Canchola D, Lapizco-Vázquez R, Ortiz-Sandoval C, Burgos-Hernandez A, Robles-Zepeda RE. 2013. In vitro antioxidant and antiproliferative activities of plants of the ethnopharmacopeia from northwest of Mexico. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 13:12 .
- Karadag A, Ozcelik B, Saner S. 2009. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Anal Methods.* 2:41-60
- König S. 2011. La medicina indígena: un sistema de salud. *Tukari.* 3(16):4-5
- Komen SG. 2009. Datos para la vida, la quimioterapia – Como enfrentar los efectos secundarios. *Revista Susan G. Komen for the cure.*
- Kuskoski E.M, Asuero A.G, García-Parrilla M.C, Troncoso A.M, Fett R. 2004. Actividad Antioxidante de Pigmentos Antociánicos. *Cienc Tecnol Aliment Campinas.* 24(4):691-693.
- López Estudillo R, Hinojosa García A. 1988. Catalogo de plantas medicinales sonorenses. Universidad de Sonora.
- Mamedov Nazim. 2012. Medicinal Plants Studies: History, Challenges and Prospective. *Med Aromat Plants.* 1(8):1000-e133.
- Mastro Paolo D, Camerman A, Lou Y, Brayer GD, Camerman N. 1995. Crystal and molecular structure of paclitaxel (taxol). *Proc Natl Acad Sci.* 92:6920-6924.
- Meléndez N.P, Nevárez-Moorillón V, Rodríguez-Herrera R, Espinoza J. C, Aguilar C.N. 2014. A microassay for quantification of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging. *Afr J Biochem Res.* 8(1):14-18.

Moo-Puc R, Chale-Dzul J y Caamal-Fuentes E. 2013. *Bonellia albiflora*: A Mayan medicinal plants that induces apoptosis in cancer cells. Complementary and alternative medicine. Article ID 823453.

[MPSINCRP] Ministerio de la Protección Social, Instituto Nacional De Cancerología E.S.E. Republica de Colombia. 2004. El Cáncer, Aspectos básicos sobre su biología, clínica, prevención, diagnostico y tratamiento. Coordinación editorial por María Clara Ucrós Escallón.

[NCI] National Cancer Institute. 2004. Antioxidant and cancer prevention: fact sheet. At the national institutes of health.

Petrovska Biljana B. 2012. Historical review of medicinal plants' usage. Pharmacogn Rev. 6(11):1-5

Popoca J, Aguilar A, Alonso D, Villareal ML. 1997. Cytotoxic activity of selected plants used as antitumoral in Mexican traditional medicine. Journal of Ethnopharmacology. 59:173-177.

Purata SE. 2008. Uso y manejo de los copales aromáticos: resinas y aceites. CONABIO/RAISES. México. 60p.

Quispe A, Zavala D, Rojas J, Posso M, Vainsberg A. 2006. Efecto citotoxico selectivo in vitro de muricin h (Acetogenina de *Annona muricata*) en cultivos celulares de cáncer de pulmón. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 23(4);265:269.

Rojas-Sepúlveda AM, Mendieta-Serrano M, Antúnez Mujica MY, Salas-Vidal E, Marquina S, Villareal ML, Puebla AM, Delgado JI y Alvarez L. 2012. Cytotoxic podophyllotoxin type-ligands from the steam bark of *Bursera fagoroides* var. *fagoroides*. Molecules. 17:9506-9519.

Serrano Parrales R, Vázquez Cruz B, Segura Cobos D, Anaya Lang AL, Jiménez-Estrada M, y Canalez Martínez M. 2011. Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant properties of *Bursera morelensis* bark from San Rafael, Coxcatlán, Puebla (México): Implications for cutaneous wound healing. J Med Plants Res. 6(44):5609-5615.

Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Hawkins Byrne D. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. Journal of Food Composition an Analysis. 19:669-675.

Tirzitis G, Bartosz G. 2010. Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights. Biochimica Polonica. 57(1):139-142.

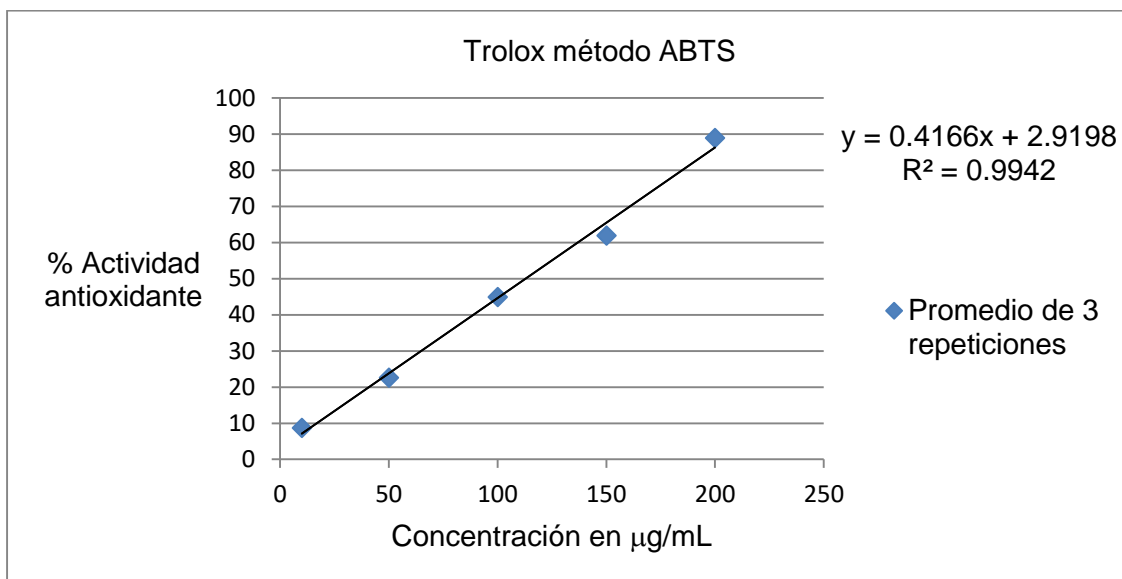
Yetman D, Van Devender T. 2002. Mayo ethnobotany: land, history, in traditional knowledge in northwest Mexico. Berkeley and Los Angeles (CA): University of California Press. 359p.

Zavaleta J, Muñoz AM, Blanco T, Alvarado-Ortiz C, Loja B. 2005. Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. 5(2):4.

ZENBIO. 2010. ABTS Antioxidant Assay Kit Cat# AOX-1. Zen-Bio Inc. Instruction Manual ZMB0034.03:1-11.

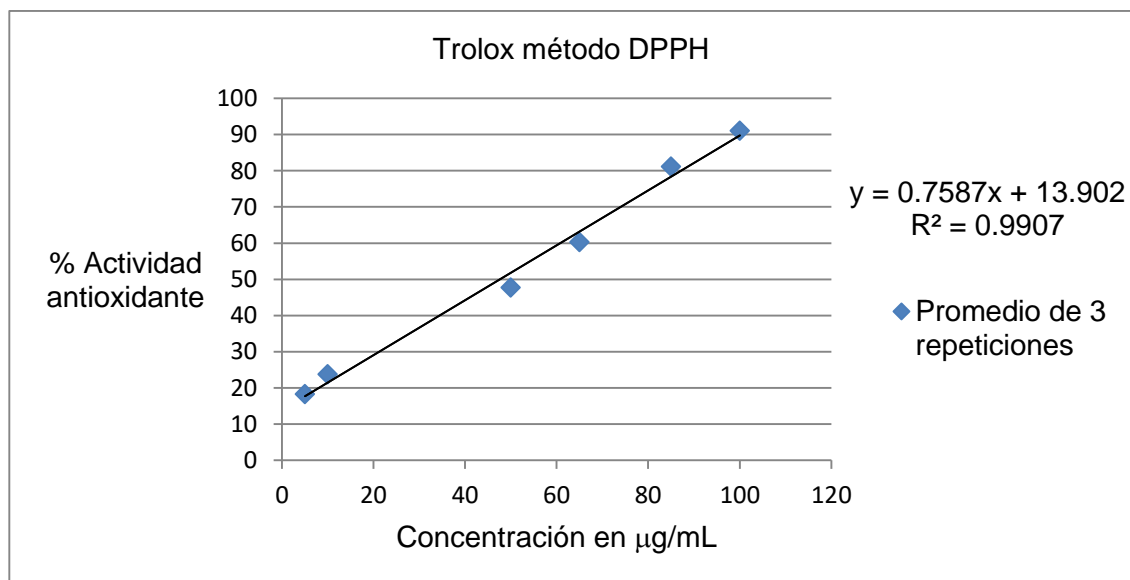
ANEXOS

Anexo I.



Curva de calibración del antioxidante trolox por el método ABTS

Anexo II.



Curva de calibración del antioxidante trolox por el método DPPH