



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA.

**Aislamiento de metabolitos secundarios
biodinámicos a partir de *Luffa aegyptiaca* Mill. (*L.
cylindrica* (L.) Roem).**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A :

Adriana Martínez Vázquez.

Director de tesis.
Dr. Mariano Martínez Vázquez.
Asesor interno.
Dra. Hortensia Rosas Acevedo.

MEXICO D.F.

FEBRERO 2008.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

Gracias a los sinodales: Dra. F. Leonora Sánchez García Figueroa, Q.F.B. Enriqueta Castrejón Rodríguez, M. en C. Ana Maria Soriano Martínez, Dra. Hortensia Rosas Acevedo. Y a los profesores, por sus observaciones realizadas en mi trabajo.

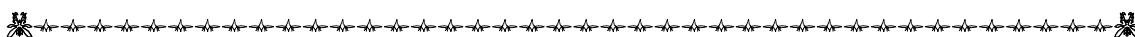
A Teresa Ramírez Apan y Antonio Nieto, por la realización de las pruebas biológicas.

A los realizadores de las pruebas de IR, RMN, Y EM.

Y en especial al Dr. Mariano por su gran apoyo, por la paciencia que me tuvo y que me tiene, por su gran enseñanza en el laboratorio, pero sobre todo por ser un gran ser humano, por creer en mí, por apoyarme en los momentos difíciles y darme su confianza.

A mis compañeros y amigos de laboratorio, por los buenos momentos que pasamos en esas largas jornadas de trabajo, pero muy divertidas y de gran aprendizaje.

Para triunfar en la vida, no es importante llegar primero. Para triunfar simplemente hay que llegar, levantándose cada vez que se cae en el camino.





GRACIAS!

A dios por permitirme estar viva, por darme la oportunidad de querer, amar y valorar lo que me rodea, por estar conmigo en todo momento y cuidarme siempre.

A mi papa por el apoyo económico brindado, y a mi mama por el apoyo incondicional que me da, por sus palabras y sus abrazos cuando los necesito.

A mis hermanas (o), a mis cuñados(a), a mis sobrinos, que son un enorme orgullo para mí, y que saben que esto es por ustedes, gracias familia por quererme y por estar conmigo, aun en mis ratos difíciles saben que los quiero muchísimo y que siempre serán lo mas importante para mí.

A una persona que estuvo conmigo mucho tiempo, que me apoyó y me brindó su cariño y su incondicional ayuda, gracias porque se que fuiste parte fundamental en mi vida, y sobre todo en mi carrera, creíste en mí y no te defraude, siempre te recordare como alguien muy especial.

A todas mis amigas (os) por los grandes consejos que me dieron y que me dan, por su amistad, por esos ratos de parranda y de risas, en especial a mi amiga Lorena, por estar conmigo cuando lo necesito y por escucharme y aconsejarme cuando tengo algún problema, por brindarme su sincera amistad, lo valoro en verdad amiga y te quiero mucho.

En la vida hay momentos de cambio, donde hay que tomar decisiones y emprender nuevos propósitos, por muy difíciles que parezcan. Yo, estoy en ese instante de cambio, evolución, aprendizaje y superación.

Gracias por creer en mí.



INDICE GENERAL	Pag.
Introducción	
1.- Plantas medicinales.....	1
2.- Plantas medicinales en México.....	2
3.- Cáncer (definición).....	3
3.1.- El cáncer como problema de salud pública	4
3.2.- El tratamiento del cáncer (quimioterapia).....	5
3.3.- Principios antineoplásicos aislados de especies vegetales.....	7
4.- Inflamación y cáncer.....	11
5.- Plantas medicinales de México con actividad citotóxica y antiinflamatoria.....	13
6.- Metabolitos primarios y secundarios.....	16
7.-Los triterpenos como potenciales agentes anticancerosos.....	18
8.-Usos en la medicina tradicional de especies del género <i>Luffa</i>	19
9.- Ubicación taxonómica (familia cucurbitaceae, género <i>Luffa</i> Mill, <i>Luffa aegyptiaca</i> Mill.)	20
10.- Antecedentes etnobotánicos de <i>Luffa aegyptiaca</i>	23
10.1.- Antecedentes químicos del género <i>Luffa</i>	25
10.2.- Antecedentes químicos de la especie <i>Luffa aegyptiaca</i>	26
10.3.- Antecedentes farmacológicos de la especie <i>L. aegyptiaca</i>	29
11.- Justificación.....	32
12.-Hipótesis.....	33
13.-Objetivos.....	34
14.-Material y métodos.....	35
14.1.- Material vegetal.....	38
14.2.- Extracción.....	38
14.3.- Evaluación de la actividad biológica.....	39
14.3.1.- Evaluación de la actividad citotóxica.....	39
14.3.2.- Actividad antiinflamatoria.....	40

14.4.-Análisis cromatográfico.....	41
14.4.1.- Fraccionamiento de los extractos hexánicos.....	41
14.4.2.- Fraccionamiento de los extractos de acetato de etilo.....	43
14.4.3.- Fraccionamiento de los extractos metanólico.....	45
15.- Resultados	47
15.1.- Análisis químico.....	48
15.2.- Obtención de extractos.....	50
15.3.- Actividad farmacológica.....	50
15.3.1.- Citotoxicidad.....	50
a) Extractos hexánicos.....	51
b) Extractos de acetato de etilo.....	52
c) Extractos metanólico.....	53
d) Metabolitos secundarios.....	54
15.3.2.-.-Actividad antiinflamatoria de los extractos hexánicos, acetato de etilo y metanólicos.....	55
a) Metabolitos secundarios.....	56
16.- Conclusiones.....	58
17.-Literatura citada	59
18.- Anexo.....	69

INTRODUCCIÓN

1.- Plantas medicinales

Desde su aparición en la tierra el hombre requirió de los recursos naturales para su sobrevivencia. Su relación con la naturaleza se fue estrechando y pronto descubrió los caminos para vincularse con su entorno, las plantas y los animales empezaron a formar parte del mundo. En ellos encontró la base de su alimentación y la principal fuente de los remedios para sus males.

Una larga experiencia le permitió comprobar, en el caso de las plantas, sus propiedades curativas, y a partir de ese momento se inicio el conjunto de conocimientos empíricos de lo que hoy se conoce como medicina tradicional ^[1]. Por consiguiente, la medicina tradicional es la que expresa las creencias, actitudes y acciones que la sociedad tiene sobre lo que es la salud y la enfermedad, las cuales resultan ser un reflejo de su organización social, económica, familiar, educacional, de su mundo religioso y cultural ^[2].

Esta experiencia adquirida fue transmitida de generación en generación principalmente por vía oral. Así, se sabía que determinadas plantas podían aliviar numerosas enfermedades y promover su curación.

Se confiaba en la experiencia y es comprensible que así fuera, puesto que en aquellos tiempos aun, no existía la menor posibilidad de estudiar científicamente las plantas y sus efectos curativos ^[3].

A través de la historia, la práctica de la medicina tradicional ha permitido seleccionar un grupo de especies vegetales para el tratamiento de diversas enfermedades. Sin embargo, pocas especies han sido estudiadas para validar sus supuestas propiedades medicinales. No obstante, existen algunas investigaciones las cuales han permitido validar el uso de ciertas especies vegetales empleadas en la medicina tradicional ^[3]. Por otro lado, a pesar de que existen un gran número de fármacos sintéticos, varios de ellos no logran sus objetivos terapéuticos o presentan severos efectos secundarios. Entre estos están los anticancerígenos o los antivirales. También se puede presentar resistencia a algunos fármacos, como sucede con algunos antibióticos, Por estas razones, existe una demanda creciente de nuevos agentes terapéuticos ^[4].

Es en este contexto, que las llamadas plantas medicinales constituyen una alternativa para la procuración de salud. Aun más, debido a su bajo costo y a su aparente inocuidad, el uso de estas especies vegetales esta muy extendida en todo el país. Varios estudios han demostrado la validez de varias especies medicinales, sin embargo, también existen plantas medicinales que resultaron inocuas o inclusive hasta potencialmente peligrosas ^[4].

Se estima que unos 120 productos farmacéuticos derivan directamente de las plantas medicinales. Y también, un 25% de las medicinas actuales contienen algún principio que deriva directamente de las plantas medicinales.

Aún más, el 75% de las medicinas derivadas de las plantas, son de especies ubicadas en los bosques tropicales ^[3].

2.- Plantas medicinales en México.

México es un uno de los países del Nuevo Mundo con mayor diversidad de especies vegetales. Su flora fanerogámica es de aproximadamente 220 familias, 2 410 géneros y 30 000 especies ^[5]. Dentro de las cuales 3 352 especies son mencionadas como medicinales ^[6]. Esta diversidad, indiscutiblemente se debe a la variedad climática que el país presenta, lo cual origina una riqueza de flora, fauna y micología variada ^[5]. Aunada a esta diversidad, también persiste en la sociedad, un conocimiento tradicional en sus distintas regiones geográficas, por lo que prevalecen conceptos, tecnología y formas de vida que contienen conocimientos ancestrales que se manifiestan principalmente en grandes núcleos de la población tanto rural como urbana ^[7].

En México, desde tiempos prehispánicos se estableció una fuerte tradición en el uso de plantas medicinales, de tal forma que el uso de especies vegetales con fines terapéuticos constituye un rasgo cultural de la sociedad mexicana ^[4]. Actualmente, para México se tienen reportadas cerca de 4000 especies usadas con fines terapéuticos. Sin embargo, la mayoría no poseen estudios químicos o farmacológicos que avalen las propiedades que se les atribuyen en medicina folklórica. Esto explica que en ocasiones los resultados obtenidos de su uso no sean satisfactorios ^[3].

Como herencia de las civilizaciones asentadas en Mesoamérica, la flora medicinal del centro y sur del país es ampliamente utilizada, después de todo; en dichas

regiones abundan las fuentes autóctonas para el conocimiento de botánica medicinal, entre otras tenemos, pictografías, códices, libros sagrados, así, como una rica tradición oral de grupos étnicos aun existentes, que fue bien utilizada por cronistas y científicos como Motolinia y Sahagun entre otros ^[7].

Menos conocida es la herbolaria medicinal del norte y del noroeste, debido en parte al centralismo político y cultural que desde siempre ha imperado en nuestro país, y a la ausencia total de fuentes escritas indígenas prehispánicas ^[7].

En el presente trabajo se presentan los resultados del estudio químico y de las propiedades citotóxicas y antiinflamatorias de algunos extractos y compuestos obtenidos a partir del estropajo (*Luffa aegyptiaca Mill.*), planta medicinal utilizada en la área centro-sur del país.

3.- CÁNCER

Definición.

Aunque existen numerosos textos y referencias que intentan definir el cáncer, quizás la definición más simple es la enunciada por la Sociedad Americana de Cáncer (American Cancer Society). De acuerdo con esta Sociedad, el cáncer es un grupo de enfermedades caracterizadas por un crecimiento descontrolado de células anormales, así como su dispersión a través de todo el organismo ^[8].

Por consiguiente, se puede entender al cáncer como un proceso de crecimiento tisular producido por la proliferación continua de células anormales con capacidad de invasión y destrucción de otros tejidos ^[8].

El cáncer, que puede originarse a partir de cualquier tipo de célula en cualquier tejido corporal, no es una enfermedad única, sino que en realidad es un conjunto de enfermedades que se clasifican en función del tejido y célula de origen.

Por otro lado, de acuerdo con Sir Rupert Willis, una neoplasia, es una masa anormal de tejido que no está coordinado por los mecanismos reguladores normales y cuyo crecimiento excede al del tejido normal. Adicionalmente, varios tipos de neoplasias persisten, aunque haya finalizado el estímulo que suscitó su alteración ^[8]. De manera formal, una neoplasia no constituye un cáncer hasta que presente metástasis.

Las neoplasias malignas tienen la capacidad de sufrir metástasis y formar tumores secundarios.

Como ya se mencionó, una característica del cáncer es la alteración en los mecanismos de control que regulan la proliferación y diferenciación de las células ^[9]. Esta alteración es el resultado de anomalías genéticas que puede aparecer por la mutación de un grupo específico de genes. Muchos de estos genes actúan normalmente suprimiendo o estimulando la continuidad del ciclo celular, y su pérdida o inactivación da lugar a una división celular acelerada ^[10].

3.1.- EL CÁNCER COMO PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA

Actualmente, de acuerdo con los estudios estadísticos disponibles, el cáncer constituye una de las principales causas de muerte de la humanidad. Se calcula que cada año más de 10 millones de personas son diagnosticadas con cáncer, de las cuales, 6 millones morirán. Esta cifra representa el 12% de las posibles defunciones totales a nivel mundial. Adicionalmente, se ha estimado que para el año 2020 el número de nuevos casos se incrementará a 15 millones ^[11].

En México, según los registros de la Secretaria de Salud, desde 1990, el cáncer ocupa el segundo lugar como causa de muerte. De tal forma, que en el año 2002, el cáncer provocó 58 599 defunciones. Llama la atención, el hecho de que, para el grupo de mujeres entre 35 y 64 años de edad, el cáncer constituye ya la primera causa de muerte ^[12]. En la Figura 1 se muestra la distribución porcentual, por sexo, del tipo de tumor maligno.

Sin duda, el cáncer constituye un problema de salud pública a nivel mundial y ocupa un lugar de especial importancia en los programas de asistencia médica, prevención e investigación.

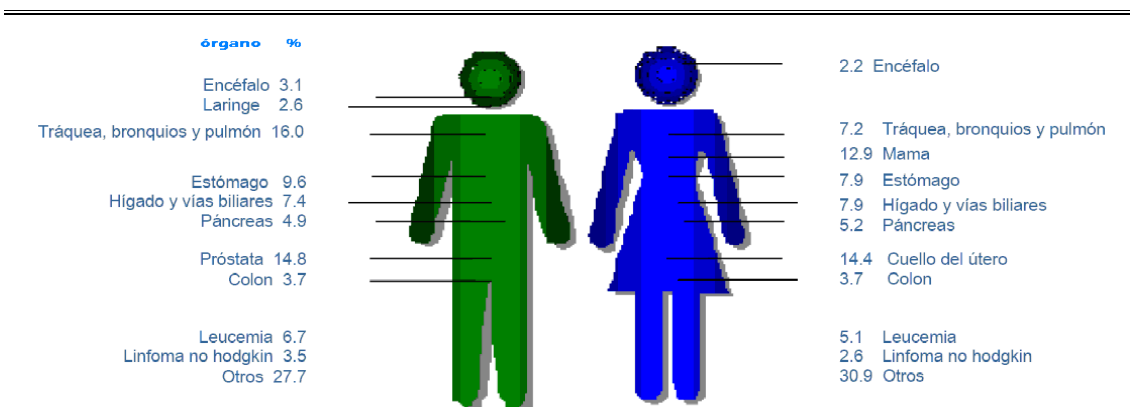


Fig.1. Distribución porcentual de defunciones por tumores malignos en México durante el año 2002 ^[12].

3.2.- EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER.

Es conocido, que por su etiología genética el cáncer se desarrolla de manera muy particular de paciente a paciente. Tomando en cuenta lo anterior, hoy en día, se tratan de establecer terapias individuales en las cuales se combinan los procedimientos quirúrgicos con regímenes de radioterapia y de quimioterapia.

Quimioterapia.

Existen algunos antecedentes históricos que dan cuenta del empleo de compuestos químicos para tratar este tipo de padecimientos. Antiguamente, por ejemplo, se utilizaron algunas preparaciones de plata, zinc y mercurio o la llamada solución de Fowler (arsenito de potasio) que en 1865 Lissauer, la utilizó para tratar a un paciente con leucemia ^[13]. No obstante, la era moderna de la quimioterapia se inició en la década de los años 1940, con la introducción de las mostazas nitrogenadas, las cuales fueron sintetizadas como armas químicas.

Las autopsias realizadas a los soldados muertos por exposición al llamado gas mostaza, indicaban que estas víctimas presentaban una hipoplasia linfóide generalizada así, como mielosupresión.

Con el fin de evaluar el potencial terapéutico de esta serie de toxinas desarrolladas para la guerra química, en 1942, Louis Goodman y Alfred Gilman fueron reclutados por el Departamento de Defensa de los Estados Unidos. Tomando en cuenta los datos obtenidos por las autopsias, Goodman y Gilman propusieron que en dosis bajas, de un agente similar podría causar una regresión de un tumor linfático. En mayo

de 1942, después de evaluaciones exitosas en ratones, ambos farmacólogos convencieron a su colaborador, el cirujano Gustav Lindskog para que tratara a un paciente que sufría de un linfoma del tipo no-Hodgkin con la mecloroetamina, una mostaza nitrogenada. No obstante, que se produjo una remisión del tumor por algunas semanas, este continuó su crecimiento hasta la muerte del paciente. Sin embargo, por primera vez se estableció que la administración sistemática de algunos fármacos puede inducir la regresión de tumores cancerosos ^[13].

Una de las principales características de estos derivados nitrogenados es su habilidad alquilante, propiedad que permitió su desarrollo para uso clínico ^[14,15].

No obstante de que los primeros resultados utilizando quimioterapia en contra del cáncer fueron limitados, era claro que esta aproximación mostraba un enorme potencial para obtener fármacos antineoplásicos. Este argumento, motivó la creación de un programa de desarrollo de fármacos anticancerosos, en especial en Estados Unidos de América y en 1955, se autorizó la creación del Centro de Servicio Nacional de la Quimioterapia de Cáncer en el Instituto Nacional del Cáncer. Desde entonces se han aprobado más de 30 fármacos para el uso en el tratamiento de los pacientes con enfermedades malignas ^[14]. Algunos de estos fármacos, curan a la mayoría de los pacientes con coriocarcinoma, cáncer testicular, leucemia linfocítica aguda y diversos tipos de linfomas.

Adicionalmente, el tratamiento combinado de fármacos antineoplásicos, mejora la respuesta farmacológica en pacientes con cáncer de ovario o con leucemia mielocítica aguda, aunque, la tasa de curación alcanza solo del 10 al 20%. Desafortunadamente, otros tipos de cáncer son menos susceptibles al tratamiento quimioterapéutico.

Uno de los usos terapéuticos más frecuentes de los fármacos antineoplásicos es su empleo como adyuvantes. Para ello, los fármacos se administran antes (neoadyuvante) o después del tratamiento definitivo (cirugía o radioterapia).

En el cuadro 1, se nombran algunos de los agentes antineoplásicos más representativos.

Cuadro 1. Clasificación de agentes antineoplásicos según su mecanismo de acción o su origen [16].

Agentes alquilantes y de unión a ADN	Antimetabolitos
Mecloroetamina	Metotrexato
Melfalan	5-Fluorouracilo
Ciclofosfamida e Ifosfamida	Arabinósido de citosina
Clorambucil	Gemcitabina
Busulfan	6- mercaptopurina y 6-tioguanina
Nitrosoureas	2-clorodesoxiadenosina
Cisplatino y carboplatino	
Dacarbacida y Procarbacida	
Mitomicina C	
Antibióticos	Compuestos de origen natural y sus derivados
Actinomicina D	Vincristina, Vinblastina
Doxorrubicina, daunorrubicina	Vinorelbina, Etopósido, Tenipósido
Epirubicina, Bleomicina	Paclitaxel, Docetaxel
	Derivados de la camptotecina
Diversos	Hormonas
L- Asparaginasa	Glucocorticoides
Hidroxiureas	Tamoxifeno
	Agentes progestacionales
	Agentes antiandrógenos

3.3.- PRINCIPIOS ANTINEOPLÁSICOS AISLADOS DE ESPECIES VEGETALES.

Se ha reconocido que las llamadas plantas medicinales constituyen el principal recurso terapéutico y en varias ocasiones el único, de las sociedades en los países pobres o en desarrollo. Este fenómeno es debido a la fácil accesibilidad, el bajo costo y los antecedentes etnofarmacológicos de las especies vegetales utilizadas. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que aproximadamente el 80% de la población mundial ha utilizado la medicina tradicional en sus cuidados de salud.

Se calcula que los metabolitos secundarios de origen vegetal representan alrededor del 50% de los fármacos de uso clínico en países desarrollados y de estos, el 25% derivan de plantas superiores ^[17].

A lo largo del tiempo se han utilizado varias estrategias para el aislamiento de compuestos antineoplásicos de origen vegetal, como son el tamizaje y la evaluación de estructuras novedosas. Sin embargo, la más utilizada es aquella que toma en cuenta los antecedentes etnomédicos o etnofarmacológicos de las especies de interés.

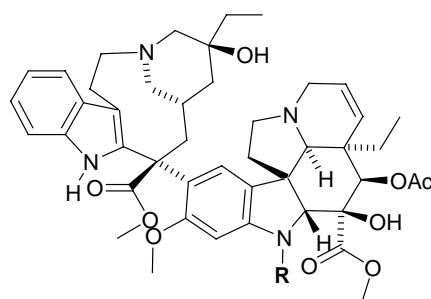
En 1982, se publicaron aproximadamente 3000 especies de plantas que etnomédicamente se habían referido como anticancerosas ^[18]. Sin embargo, debido a que algunos síntomas del cáncer se pueden confundir con procesos inflamatorios simples, es difícil separar las posibles especies anticancerosas con aquellas que presentan propiedades antiinflamatorias [18].

Uno de los ejemplos más estudiados de especies con antecedentes etnobotánicos lo constituye *Catharanthus roseus* L, especie conocida comúnmente como *Vinca rosea*, por lo que hoy en día se le conoce simplemente como vinca (Figura 2). Esta especie había sido referida como hipoglucémica; sin embargo, cuando se estudiaron sus efectos farmacológicos se encontró que provocaba granulocitopenia y depresión de la médula ósea en animales de laboratorio. Investigaciones posteriores realizadas por Johnson y colaboradores, demostraron que algunas fracciones de alcaloides de esta planta tenían actividad contra neoplasia linfocítica murina. El estudio químico permitió el aislamiento de cuatro alcaloides diméricos activos: vinblastina, vincristina, vinleurosina y vinrosina (Figura 3). Los dos primeros, se convirtieron en agentes clínicamente importantes para el tratamiento de leucemias, linfomas y cáncer testicular ^[19, 20].



(Tomada de <http://personal.iddeo.es/plantas/vinca.htm>)

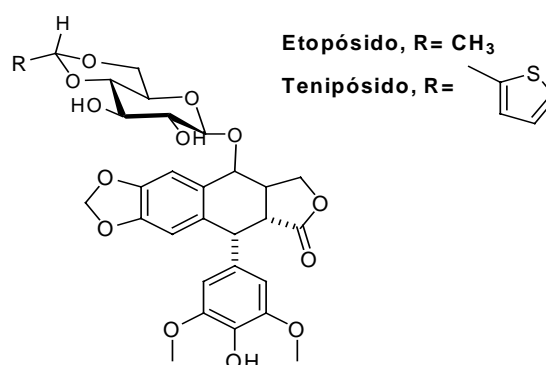
Figura 2. *Catharanthus roseus* L



Vinblastina, R= CH₃
Vincristina, R=CHO

Figura 3. Metabolitos aislados de *Catharanthus roseus* L.

Otro ejemplo lo constituye la famosísima mandrágora, *Podophyllum peltatum* L., con amplios antecedentes mágicos en la Europa medieval. Sin embargo, es una especie que se empleó como remedio popular por sus efectos eméticos, catárticos y antihelmínticos por los indígenas de América y los primeros colonizadores de este continente (Figura 4). A partir de esta planta, se aisló la podofilotoxina, de la cual, se obtuvieron dos glucósidos semisintéticos, el etopósido y el tenipósido (Figura 5), los cuales tienen aplicación en el cáncer testicular y en el carcinoma de células pequeñas del pulmón ^[21].



(Tomada de flower.onego.rv/other/podophyl.html)

Figura 4. *Podophyllum peltatum* L

Figura 5. Metabolitos aislados de *Podophyllum eltatum* L.

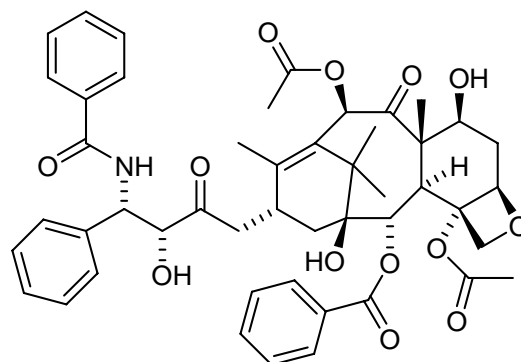
En la década de los años 60 se realizó una evaluación masiva de las propiedades citotóxicas de cientos de extractos de especies vegetales por el Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos (EE.UU.). Como un resultado de esta búsqueda, se descubrieron las propiedades citotóxicas del tejo del pacífico (*Taxus brevifolia* Nutt.) (Figura 6). Estudios posteriores permitieron el aislamiento y elucidación estructural del taxol, un diterpeno responsable de las propiedades citotóxicas de la especie ^[22, 14,20].

El taxol hoy comercializado con el nombre de paclitaxel® (Figura 7) es sin duda, el compuesto anticanceroso más vendido en el mundo. En el 2000, las ganancias por la venta de este compuesto superaban a los 1500 millones de dólares anuales ^[22].



(Tomada de www.cfr.washington.edu/coniferas.htm)

Figura 6. *Taxus brevifolia* Nutt.



Paclitaxel

Figura 7. Metabolito aislado de *Taxus brevifolia* Nutt.

Otros compuestos con importancia clínica son la camptotecina y sus derivados, el irinotecano y el topotecano. Así también la homoharringtonina, la elipticina y su derivado, el eliptinium (Figura 8). Este último, empleado en Francia para el tratamiento del cáncer de mama [20].

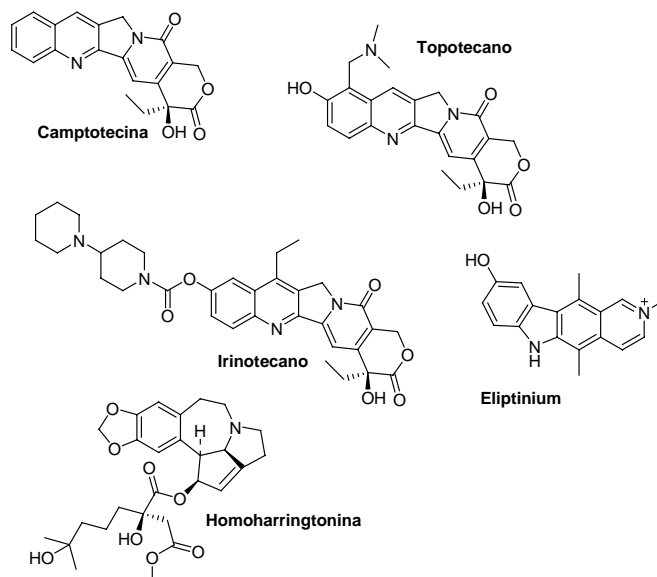


Figura 8. Compuestos de origen natural y algunos derivados con importancia clínica en el tratamiento del cáncer.

No obstante que los compuestos antes mencionados ocupan un lugar preponderante en la clínica, existe una gran diversidad de metabolitos secundarios, con probada actividad contra líneas celulares de cáncer humano. Así, es posible encontrar en cada tipo de metabolito secundario algún representante con propiedades citotóxicas. Entre éstos podemos mencionar las cumarinas ^[23], los flavonoides ^[24], los sesquiterpenos ^[25], los diterpenos ^[26] y los triterpenos ^[27,28]. Como era de suponer, los mecanismos de acción involucrados en la actividad citotóxica de estos grupos de compuestos son muy variados ^[29].

4.- INFLAMACIÓN Y CÁNCER.

La percepción de que el proceso de inflamación, puede causar cáncer no es nueva. En 1863 Virchow, hipotetizó, que el origen del cáncer se encuentra en sitios de inflamación crónica, en parte basó su hipótesis, en que existen algunas clases de irritantes que junto con el tejido dañado, da como resultado la inflamación y el aumento de proliferación celular.

La proliferación celular es un proceso rico en células inflamatorias, que hace que aumenten los factores de riesgo, activando el estroma y causando un daño prominente al ADN. ^[30].

Generalmente un patógeno es el responsable de establecer la infección crónica, causando una persistente respuesta inflamatoria. *Helicobacter pylori* en cáncer de estomago, el virus del herpes en cáncer cervical y esquistosomas en cáncer. Continuas irritaciones tales como, asbestos, sílica y fumar cigarrillos también incrementa la probabilidad de desarrollar cáncer bronquial.

Inflamaciones crónicas, tales como, colitis ulcerosa o enfermedades crónicas, pueden propiciar el cáncer colorectal. Por otro lado, hoy se conoce que el retrovirus oncogénico, que provoca el virus sarcoma, requiere una respuesta inflamatoria para inducir la aparición de tumores secundarios ^[30].

Se conoce que la respuesta inflamatoria es mediada por una variedad de células, por ejemplo, células madre, macrófagos, granulocitos, plaquetas, linfocitos, terminaciones nerviosas, células endoteliales, etc. Entre ellos, los macrófagos son una clave importante, ya que ellos generan factores angiogénicos, proteasas y factores de crecimiento, los cuales desarrollan en un medio, el cual las células epiteliales estimulan la migración, proliferación y la sobrevivencia.

Estas células son una clave importante para otras células, ya que ayudan a organizar la respuesta inmunológica. Sin embargo los macrófagos asociados a tumores (TAMs), tienen un papel importante en la progresión tumoral ^[30].

Por otro lado, las citoquinas pro inflamatorias: interleucina-1B (IL-1B) y TNF- α son importantes mediadores moleculares y responsables de la respuesta inmune y la inflamación. La producción excesiva de IL-1 β y TNF- α contribuyen al inicio y progresión de un número de inflamaciones y patologías autoinmunes ^[31].

Otro ejemplo lo constituye la citosina oncogénica relacionada al crecimiento (GRO) conocida también como CXCL1 y la IL-8 las cuales, estimulan la proliferación y migración.

Todos estos datos indican que este tipo de proteínas pueden estar involucradas en el crecimiento y migración de células en el tumor ^[31].

Otra fuente que contribuye a la formación de cáncer es el óxido nítrico (ON) que es un mediador importante en diversas funciones fisiológicas incluyendo la vasorelajación, neurotransmisión y modulación inmune. La síntesis excesiva de ON, aumenta condiciones patológicas que contribuyen a citotoxicidad, daño a los tejidos y la modulación de la respuesta inflamatoria.

El ON es sintetizado a partir de la L- arginina en diversas células, como respuesta a signos fisiológicos y patológicos. Estas síntesis son catalizadas por una pequeña familia de

enzimas llamadas óxido nítrico sintasas (NOS) las cuales tiene tres isoformas características; neuronal (nNOS) inducible (iNOS) y endotelial (eNOS) .

La iNOS es una proteína citosólica ampliamente distribuida. En células no activas su expresión es baja pero se incrementa por diversos factores como citocinas pro inflamatorias, varias endotoxinas, procesos de hipoxia y reacciones de especies reactivas de oxígeno.

Esta inducción es vigorosa y la concentración de ON generado por la iNOS es casi tres veces que la generada por la NOS constitutiva. La fuerte producción de NO puede también, causar daños al tejido ^[32].

Estos hallazgos muestran que la creación de la inflamación en micro ambientes pueden causar transformación neoplásica y la progresión de potencial de cánceres ^[33].

Por lo tanto la inhibición o atenuación de procesos inflamatorios puede ayudar en los tratamientos de cáncer.

En algunos trabajos ha sido usado el modelo in vivo de edema inducido TPA (13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol), hacia la evaluación de actividad antiinflamatoria de extractos aislados.

Sin embargo, como es sabido el prototipo de tumor inducido por TPA no sólo porta una aguda respuesta inflamatoria, si no también, causa alteraciones en algunas citoquinas, ya que como se mencionó estas son requeridas para el desarrollo del cáncer.

Por lo tanto, es posible que estos compuestos antiinflamatorios en modelo de TPA, pudieran tener efectos antiproliferativos y quimiopreventivos.

Tomando en cuenta lo anterior, actualmente existe una tendencia de buscar una correlación entre la citotoxicidad y propiedades antiinflamatorias de extractos de plantas medicinales nativas de México, así, como el aislamiento de metabolitos secundarios responsables de estas actividades y algunos derivados de ellos ^[30].

5.- Plantas medicinales de México con actividad citotóxica y antiinflamatoria.

***Decatropis bicolor* (Zucc) Radlk (Rutaceae)**

Es un árbol pequeño entre 2 y 7 metros de altura, se da en zonas áridas en el estado de Hidalgo México. Las partes aéreas de esta planta son conocidas como “aranto” tiene uso en la medicina folklórica en México, la utilizan como remedio para infecciones bacterianas, para cáncer y como un antiinflamatorio.

Nuestros estudios muestran que el extracto acuoso de *D. bicolor* posee actividad antiinflamatoria, el cual fue evaluado en modelo de edema inducido- TPA.

El análisis químico, permitió el aislamiento de 6 coumarinas: heraclenina, heraclenol, psoralen, imperatorina y seselina, así, como también un alcaloide esquimina. Estos compuestos mostraron actividad anti-inflamatoria, pero sólo heraclenina (ID₅₀ 0.33 mg/oreja), heraclenol (ID₅₀ 0.75 mg/oreja), seselina (ID₅₀ 0.25 mg/oreja) y esquimina (ID₅₀ 0.75mg/oreja), mostraron una actividad dependiendo de la dosis ^[34].

La mayoría de los compuestos aislados de *D. bicolor* también tienen acciones anti- proliferativas. Un ejemplo de esto es la imperatorina, la cual induce la apoptosis en humanos en pro- melanocitos en células de leucemia HL-60^[35].

D. bicolor contiene altas cantidades de compuestos antiinflamatorios y anticancerosos, y son probables respuestas de la actividad biológica atribuida a esta especie ^[34].

Annona cherimolia Mill. (Annonaceae).

Árbol subtropical nativo del sur de América y cultivado en todo el mundo, debido a sus frutos llamados “chirimoya”, la planta es usada en la medicina tradicional como un parasiticida e insecticida, así, como también para el tratamiento de enfermedades de la piel.

A. cherimolia fue descrita como citotóxica y es usada en medicina folklórica de algunas ciudades tropicales para tratar el cáncer ^[36].

En un estudio para la aislamiento de compuestos citotóxicos de esta especie, fueron aislados los alcaloides coritenchina y isocorexamina, estos mostraron alta actividad hacia las líneas celulares de cáncer, K562 (leucemia) PC-3 (próstata) e isocoreximina también muestra actividad en MCF-7 (mama) ^[36].

Sin embargo, el mecanismo que envuelve en la actividad de aislamiento de alcaloides de *A. cherimolia* es todavía desconocido.

Hippocratea excelsa HBK. (Hippocrateaceae).

Es comúnmente conocida en la medicina folklórica mexicana como cancerina y es utilizada para el tratamiento de cáncer. Como parte de otros estudios en plantas medicinales mexicanas estuvo determinada las propiedades anti- inflamatorias y citotóxicas de un extracto no- polar de esta especie como también de sus componentes aislados.

Otros resultados, señalaron que el extracto hexánico de raíz, mostró una actividad antiinflamatoria dependiente de la dosis con una ED₅₀ (dosis efectiva 50) de 0.96 mg/oreja. El cual fue evaluado in vivo usando modelo de edema inducido usando TPA.

El estudio químico de este extracto bioactivo permitió el aislamiento de β -amirina, canofilol, canofilal, β -sitosterol, pristimerina y el ácido 3-oxocanofílico. β -amarina y β - sitosterol son compuestos conocidos por sus propiedades anti- edema. Así como también, pristimerina ha sido descrito como un compuesto altamente citotóxico ^[37].

La actividad biológica de pristimerina, se expresa debido a que posee características de tipo electrofílico, el cual le permite actuar como un aceptor en la reacción de adición de Michael con proteínas de ADN.

La actividad anti-inflamatoria de canofilol y pristimerina fue determinada usando el modelo de TPA. Ambos compuestos mostraron una alta actividad, con relación a la dosis, superior a la de indometacina que se utilizó como control positivo. El canofilol y pristimerina mostraron una ED 50 de 0.026 mg/oreja y 0.056 mg/ oreja, respectivamente [38].

Por otro lado, se ha demostrado, en pruebas *in vitro*, que la pristimerina inhibe la inducción de la enzima óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) por un mecanismo, en el cual está involucrada la inhibición de la activación del NF-KB [39].

***Casimiroa pubescens* Ramírez (Rutaceae)**

Conocida como “zapote de rata” y “zapote cimarrón”, este es un pequeño árbol endémico el cual crece en el centro de México. Trabajos previos de las semillas de *C. pubescens* permitió el aislamiento de furanocoumarinas anti-inflamatorias y citotóxicas como: fellopterina, isopimpinlina, heraclenol y heraclenina.

También las flavonas zapotina y 5, 6, 2', 3', 4',- pentamethoxiflavona, así como algunos alcaloides y limonoides fueron aislados [40].

Estos metabolitos secundarios son típicos de las especies de la familia rutaceae, sin embargo, también se aislaron dos compuestos citotóxicos, llamados pubesamida A y C [41].

Aunque ambas pubesamidas fueron citotóxicas, en líneas celulares tales como: (glía de sistema nervioso central(U251), próstata (PC-3), colón (HCT-15) y mama (MCF-7), en dosis de 50µM, la pequeña cantidad aislada de pubesamida C impidió otros estudios [41].

Por lo anterior, es factible suponer, que las plantas y microorganismos son una fuente invaluable de sustancias activas. Un dato que apoya esta suposición es que en el año 2000, se estimó que aproximadamente el 53% de fármacos en estudios clínicos correspondía a metabolitos secundarios y sus derivados, como también, a compuestos obtenidos a partir de un farmacóforo de un producto natural [42].

6.-Metabolito primario y secundario

Las plantas producen tanto metabolitos primarios como metabolitos secundarios. Los metabolitos primarios son sintetizados por el llamado metabolismo primario, el cual abarca los procesos bioquímicos que cada planta debe llevar a cabo cada día para sobrevivir y reproducirse como son: fotosíntesis, glicólisis, ciclo del ácido cítrico, síntesis de aminoácidos, transaminación, síntesis de materiales estructurales, duplicación del material genético, reproducción de células (crecimiento), absorción de nutrientes, etc. Los productos de este metabolismo son de distribución universal ^[43].

De esta manera, paralelamente a los compuestos primarios: aminoácidos, proteínas, carbohidratos, lípidos, ácidos nucleicos, ácidos carboxílicos, etc., y a través de las mismas o similares vías de biosíntesis, se originan otro tipo de compuestos que por sus características particulares y específicas se denominan, compuestos o metabolitos secundarios y se caracterizan a grandes rasgos, por lo siguiente:

- a) La gran heterogeneidad de su estructura química.
- b) Su distribución restringida.
- c) Su formación por medio de enzimas codificadas por material genético especial.
- d) El control estricto de su biosíntesis, por medio de la regulación de la cantidad de enzimas involucradas y de la actividad de éstas.
- e) La compartimentación de enzimas, precursores, intermediarios y productos involucrados en su biosíntesis, almacenamiento y desintegración.
- f) La expresión del metabolismo secundario como un aspecto de especialización celular, o bien, de la formación de nuevas células especializadas que se integran en los programas de diferenciación y desarrollo del organismo productor.
- g) La importancia relativa para la célula sintetizadora como tal, y la mayor importancia para el organismo como un todo.
- h) La falta de continuidad filogenético en muchos de ellos ^[44].

Debido a que los ácidos grasos, los alcanos y sustancias relacionadas, ciertos monos y sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, carotenoides, ácidos cinámicos, flavonoides y posiblemente alcaloides y glucósidos cianogénicos, son obicuos o universales, todas las plantas poseen las vías biogénicas que los producen. Esto

demuestra que las dos formas de metabolismo están interrelacionadas; el metabolismo primario provee un cierto número de pequeñas moléculas que son empleadas como materiales precursores de todas las vías metabólicas secundarias importantes ^[44].

Actualmente se conocen cientos de miles de metabolitos secundarios, pero tal vez, existan millones y lo que es importante recalcar, es que se siguen biosintetizando más, gracias a las interacciones bióticas dentro y entre especies y a la continua evolución de los organismos. Entre los principales metabolitos secundarios se puede citar:

- compuestos alifáticos, carbocíclicos y heterocíclicos,
- compuestos que contienen nitrógeno, fósforo y azufre,
- compuestos saturados e insaturados,
- glicósidos,
- péptidos,
- ácidos hidroxámicos
- azometinas, que contienen grupos funcionales diversos: hidroxilo, epoxi, éster, éter, amino, nitro, carboxi ^[44].

De acuerdo con Whittaker y Feeny en 1971, los metabolitos secundarios, con algunas excepciones, pueden clasificarse, desde el punto de vista biosintético, en cinco grupos químicos principales:

- Fenilpropanos.
- Acetogeninas.
- Terpenoides.
- Esteroides.
- Alcaloides ^[44].

Generalmente las raíces y la corteza presentan los niveles más altos de acumulación. Aun más la naturaleza y cantidad de estos principios también pueden variar a lo largo de la vida de la especie y su síntesis depende de varios factores como: época del año, características del suelo, etc. ^[45].

7.- LOS TRITERPENOS COMO POTENCIALES AGENTES ANTICANCEROSOS

Los triterpenos comprenden un grupo de metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en la naturaleza.

Estos metabolitos secundarios están constituidos por 30 átomos de carbono en su núcleo principal y son sintetizados a partir de la ciclación del escualeno. La diversidad estructural de los triterpenos se puede explicar por las diferentes conformaciones que puede adoptar el escualeno al momento de ciclarse (Figura 9).

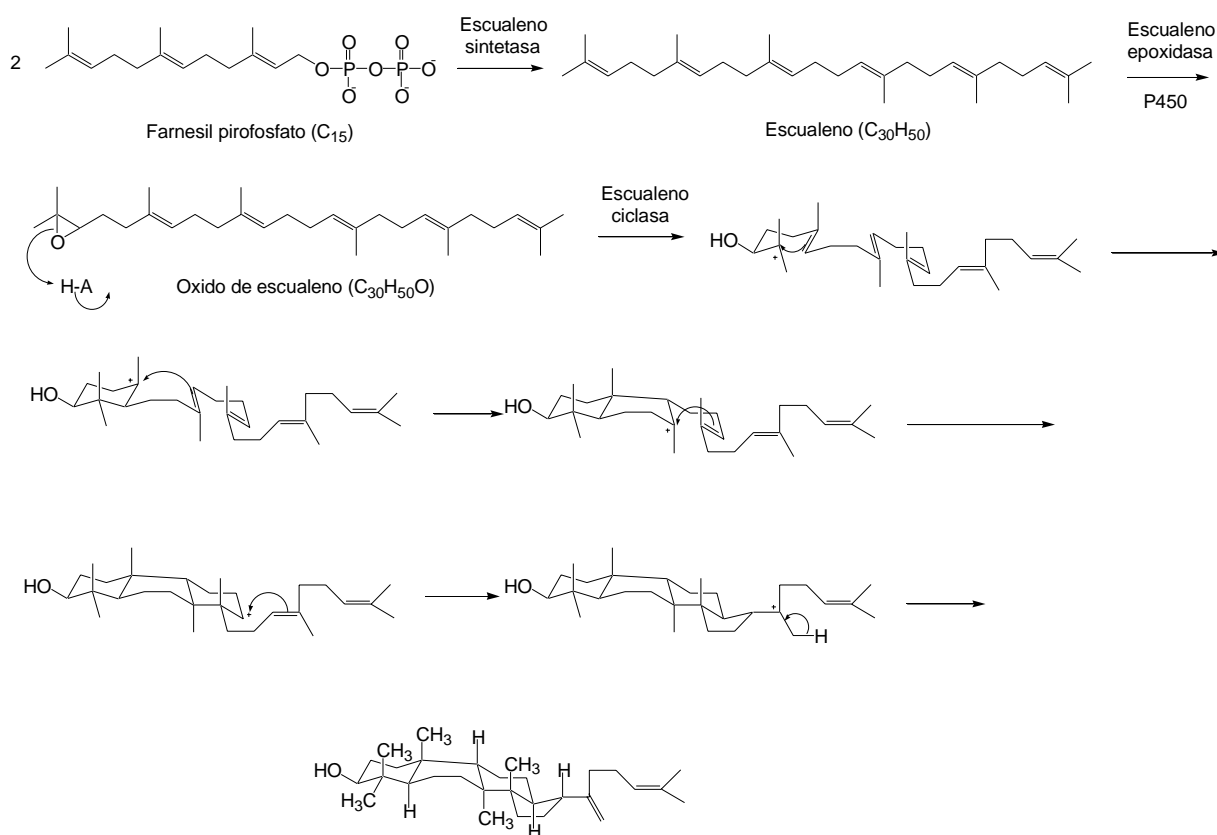


Figura 9. Conformaciones de la ciclación del escualeno.

Entre ellos se encuentran los triterpenos tetracíclicos, a los más abundantes se les han otorgado nombres triviales como, protostano, lanostano, cicloartano, damarano, eufano y tirucalano ^[46].

Por otra parte, a los triterpenos pentacíclicos más abundantes reciben nombres como ursano, oleanano, fridelano, gamacerano, taraxastano, lupano y hopano, entre los más importantes.

Por otro lado, existe una inmensa información publicada que da cuenta de las propiedades citotóxicas y anticancerosas de algunos triterpenos. La mayoría de estos metabolitos secundarios actúan a nivel de la replicación del DNA, generalmente inhibiendo enzimas como la DNA polimerasa y/o las topoisomerasas. Debido a esto, los triterpenoides se perfilan como potenciales agentes antineoplásicos ^[46]. Ejemplos de algunos triterpenos con actividad citotóxica son el ácido masticadienólico, el 3-epimasticadienólico, aislados de *Amphipterygium adstringens* Schiede ex Schlecht, comúnmente conocido como cuachalalate ^[47], así como también el β -sitosterol y pristimerina aislados de *Hippocratea excelsa* HBK ^[37], así como también existen algunos compuestos aislados de la familia de las cucurbitáceas, llamados cucurbitacinas, las cuales son triterpenos que poseen alta actividad citotóxica ^[48].

8.- Usos en la medicina tradicional de especies del género *Luffa*.

Estudios previos señalan que la pulpa de los frutos de *Luffa acutangula* tiene efectos purgativos y diuréticos. También se ha publicado que las hojas, raíces y ramas han sido utilizadas para normalizar el ciclo menstrual y como remedio para algunos malestares del hígado. Por otro lado, la fibra del fruto es usada para dar masajes al cuerpo, además de que las semillas tienen un aceite de buena calidad y funcionan como vomitivos y purgantes ^[49].

Por otro lado, los frutos secos de *L. operculata*, la cual popularmente recibe varios nombres (buchina, cabaciña, abobriña de el norte y bucha de los cazadores), han sido utilizados para el tratamiento de oftalmias, herpes, asma, llagas y heridas ^[50]. También se ha informado su uso para el tratamiento de hemorroides, además, de facilitar la menstruación, así como purgante, sudorífero, y en el tratamiento de neuralgias ^[51]. No obstante, los posibles efectos benéficos de los frutos de esta especie, se ha informado que la utilización de la infusión del fruto en el tratamiento de la sinusitis, ocasiona muchas veces hemorragias nasales. Por otro lado, la ingestión del fruto lleva a síntomas caracterizados por náuseas, vómitos, dolores abdominales y hemorragias que pueden llevar a el aborto y hasta la muerte. Se ha propuesto que el principio tóxico de esta especie sea la cucurbitacina B ^[52].

9.- Ubicación taxonómica.

Luffa aegyptiaca Mill. = *L. cylindrica* (L.) Roem.

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: *Cucurbitales*

Familia: Curcubitaceae

Género: *Luffa*

Especie: *Luffa aegyptiaca* Mill.=*L. cylindrica* (L.) Roem.

Familia Cucurbitaceae.

La familia Cucurbitaceae está constituida por 118 géneros y poco más de 825 especies, distribuidas principalmente en los trópicos y subtrópicos. Solo algunas especies crecen en las regiones templadas de ambos hemisferios. En México crecen 141 especies pertenecientes a 38 géneros de las subfamilias (Cucurbitioideae y Zanonioideae).

Es una familia con varias especies de gran importancia económica y cultural, pues muchas han sido domesticadas y utilizadas con fines alimenticios o de otro tipo. En nuestro país se cultivan varias especies, tanto endémicas, como de otras partes de América, algunas especies endémicas son las calabazas (*Cucurbita* spp.), el chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) y la calabaza melona (*Sicana odorifera* (Vell.) Naudin) y algunas introducidas del Viejo Mundo son, el melón (*Cucumis melo* L.), el pepino (*C. sativus* L.), la sandía (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsumura & Nakai) y el estropajo (*Luffa aegyptiaca* Mill. = *L. cylindrica* (L.) Roem^[53]).

Género *Luffa* Mill.

El género *Luffa* es pantropical, agrupa 7 especies de las cuales, 4 son especies nativas de los trópicos y subtrópicos del Viejo Mundo y 3 originarias de América de estas 2 son cultivadas^[53].

Son hierbas anuales o perennes de vida corta, postradas a trepadoras vigorosas, monoicas. Tallos ramificados, surcados, densa o esparcidamente pubescentes o

puberulentos. Zarcillos 2-6 ramificados. Hojas pecioladas; láminas anchamente ovadas a suborbiculares, angulosas a profundamente lobuladas, envés a veces con glándulas discoidales impresas. Flores estaminadas en racimos axilares largamente pedunculados, solitarios o menos frecuente pareados, con pocas flores; perianto pentámero; receptáculo campanulado; sépalos triangulares a lanceolados; corola amarillo brillante, penta lobulada casi hasta la base, pétalos obovados; estambres libres, insertos en la base del receptáculo; filamentos conspicuos 5 ó 3, libres o fusionados cortamente en la base, anteras contortas, conectivo ancho. Flores pistiladas solitarias, en la misma o en diferente axila que las estaminadas; perianto similar al de las estaminadas, de tamaño diferente; ovario elipsoide, ovoide, globoso o subterete, tricarpelar, adpreso- pubescente o puberulento, liso, inerme a postulado o diminutamente equinado- tuberculazo, óvulos numerosos, horizontales; estilos fusionados; estigmas (3), carnosos; estaminodios (5), rudimentarios. Bayas elipsoides, subglobosas, teretes o clavadas, rostradas, lisas e inermes a muricadas o diminutamente espinosas, a veces con costillas mas o menos prominentes, dehiscentes por un opérculo apical; epicarpo coriáceo a cartáceo y quebradizo al secar; semillas oblongo- elípticas, comprimidas, lisas o ligeramente rugosas, pardo oscuras a negras, margen diferenciado en una ala angosta, de igual color que el centro de la semilla ^[53].

***Luffa aegyptiaca* Mill.**

Sinonimos: *Cucurbita luffa* hort., *Luffa cylindrica* L. Roem., *L. pentandra* Roxb., *Momordica cylíndrica* L., *M. Luffa* L.

Hierba anual o perenne de vida corta, trepadoras, monoicas. Tallos ramificados, surcados, esparcidamente pubescentes. Zarcillos 3-4 ramificados, surcados, esparcidamente pubescentes. Hojas pecioladas, peciolo 6.6 -8.5 (-13.0) cm largo, esparcida a densamente estrigosos; láminas (2.5-) 7.7-9.6(-22.5) cm largo, (3.0-) 10.0-15.0 (-20.0) cm ancho, anchamente ovadas a suborbiculares, 3-7 anguloso- lobadas a sectadas, lóbulos agudos a acuminados, lóbulo central mayor que los lóbulos laterales, margen denticulado a crenado- denticulado, base cordada a rectangular, herbáceo- membranáceas a cartáceas, estringulosas, con tricomas cortos, rígidos, de base pustulada, envés usualmente con glándulas discoidales impresas e irregularmente

distribuidas. Flores estaminadas en racimos solitarios u ocasionalmente pareadas o a veces con una flor solitaria coaxilar; pedúnculo 8.0- 23.2 cm largo (a veces más largo que el raquis, rara vez menos), anguloso- surcado, estriguloso, glabrescente hacia la base, pedicelos 4.0-7.0 mm largo, robustos, densamente estrigulosos, con una pequeña bractéola en la base; perianto pentámero; receptáculo(3.0-) 4.5-8.0(-9.0)mm largo, 0.4-1.2 cm ancho, anchamente campanulado, adpreso- pubescente; sépalos 0.5-1.0 cm. largo, 3.0-5.0 mm ancho, triangulares a lanceolados, agudos a acuminados, adpreso-pubescentes a tomentosos, algunas veces con glándulas discoideas impresas en la superficie externa; pétalos 3.7-4.2 (-5.0) cm. largo, 2.2- 3.3. (-5.6) cm ancho, anchamente obovados, externa y esparcidamente pubescentes, vilosos en las nervaduras, interna y esparcidamente vilosos, más densamente hacia la base, fuertemente vascularizados; filamentos 5 (rara vez menos), 5.0-6.0 mm largo, libres o sólo ligeramente unidos en la base, robustos, angulosos, densamente vilosos en la base; anteras contortas, conectivo ancho. Flores pistiladas solitarias, usualmente en diferente axila que las estaminadas; pedicelo 2.0- 10.0 cm largo, robusto, surcado, pubescente a glabro; perianto similar al de las estaminadas, receptáculo más reducido y sépalos más angostos; ovario terete, densamente adpreso- pubescente a tomentoso, con franjas delgadas longitudinales, verde oscuro y glabras; óvulos numerosos, horizontales; estilos fusionados en columna engrosada; estigmas 3,2- lobados, anchos, papilosos, exertos. Frutos 18.0- 30.0 cm largo, 7.8- 10.0 cm ancho, elipsoidales a teretes, verde oscuros con franjas delgadas longitudinales cuando inmaduros, pardo claros u oscuros al madurar o secar, glabros, dehiscentes por un opérculo apical, sépalos, estilo y estigmas frecuentemente persistentes casi hasta la madurez del fruto; pedúnculo 8.5 cm largo (usualmente un poco mas), anguloso- sulcado, glabrescente; epicarpo coriáceo cuando inmaduro, cartáceo y quebradizo al madurar o secar; mesocarpo carnoso cuando inmaduro, esponjoso-fibroso-reticulado al madurar o secar; semillas (0.8-) 0.9–1.3cm largo, 5.0-8.0mm ancho, oblongo-elípticas, comprimidas, pardo claras a blanquecinas cuando inmaduras, pardo oscuras a negras al madurar, margen de igual color al centro de la semilla, diferenciado en una ala angosta. Esta especie presenta un número cromosómico $2n=26$ ^[53].

Generalmente esta especie es referida en otros trabajos como *L. cylíndrica* (L.) Roem., pero de acuerdo con Schubert en 1975, su nombre correcto es *Luffa aegyptiaca* Mill.

Es una planta cultivada, introducida del trópico del Viejo Mundo y actualmente ampliamente distribuida en América. En algunas zonas de México es frecuente encontrarla escapada de cultivo. Se encuentra principalmente, cultivada en huertos. Crece en elevaciones de 610 m.

En algunas partes de México se le conoce con el nombre común de estropajo, zacate o esponja de baño

^[53] (Figura 10).



Figura 10. *Luffa aegyptiaca* Mill.

10.-Antecedentes etnobotánicos de *Luffa aegyptiaca*.

Esta especie se ha empleado para combatir algunos parásitos. Por ejemplo, en algunas poblaciones del estado de Hidalgo se usa contra el cuichi, que es un parasito que se aloja bajo la piel sobre la espina dorsal desde la nuca hasta el ano y sólo ataca a los niños. Este padecimiento se caracteriza por un decaimiento general del enfermo y por defecar mucosidades negruzcas. Para eliminar este parasito se talla el fruto sobre la espina dorsal del paciente ^[54].

En Oaxaca, se ha utilizado para matar a los piojos, con este fin el fruto se machaca, se diluye en agua, y con esto se lava la cabeza ^[54].

En Veracruz se utiliza contra las lombrices, y en Puebla para eliminar la gericua, afección que se caracteriza por pequeñas erupciones en la piel, parecidas al salpullido de color rojo, las cuáles producen mucha comezón. Estas se originan debido a que la persona se baña en los arroyos contaminados; para curarla se ponen a hervir las hojas y con el agua se dan baños a diario hasta que la persona mejore ^[55].

Con la infusión que se obtiene de hervir el agua de los frutos pelados y picados, se prepara una pomada, útil para que cure la piel quemada por el sol ^[55].

En algunos países las hojas molidas han sido aplicadas para alivio de las hemorroides, para atacar parásitos y aliviar conjuntivitis. Asimismo la savia del tallo es usada en la elaboración de cremas de tocador ^[55]. También se dice de los frutos que tienen propiedades diuréticas, emolientes y expectorantes.

De las semillas se extrae un aceite fino, el cual se compara con el aceite de oliva y podría ser sustituto del mismo; en ellas también se ha encontrado dos proteínas que tienen un potencial efecto terapéutico sobre cáncer y SIDA. Sin embargo, las especies con un grado mayor de amargor han mostrado cierta toxicidad, por lo que se requieren mayores estudios al respecto ^[56].

La fibra de esta especie comúnmente llamado estropajo tiene múltiples usos, entre ellos se pueden citar: suelas para zapatillas o sandalias, rellenos para las industrias automotriz (relleno de asientos), mobiliaria (relleno de muebles) y textil. También es utilizado como base para cierta variedad de papel, filtros para piscinas, filtros para agua y aceite; en Norte América y Japón es considerado como excelente filtro en calderas de buques, locomotoras, bodegas, destilerías y diversas maquinarias, amortiguadores de ruido y en grandes fábricas con equipos a vapor. También se utiliza para la elaboración de artículos de artesanía y floristería; como pulidor, para producir cartón, como aislante, y hasta para la salud e higiene personal en forma de esponja de baño, ya que al frotar la piel con la fibra ésta actúa como exfoliante y permite no solo su limpieza sino la reactivación de la sangre, e incluso se ha mencionado que puede reducir la celulitis ^[56].

Por otra parte, el subproducto que resulta del proceso de extracción del aceite sirve como fertilizante, dada la riqueza en nitrógeno y fósforo en la torta remanente de dicho proceso ^[56].

Por otro lado, vale la pena destacar la importancia económica que tiene el estropajo, fruto de *Luffa aegyptiaca*. México es un exportador importante de esta fibra ^[56] (Cuadro 2).

Se conoce que los principales países latinoamericanos exportadores de manufacturas elaboradas a partir de materias vegetales del estropajo, según la base de datos de ALADI (Asociación Latinoamericana de Integración) y bajo la misma partida arancelaria (460210) son:

País	Exportaciones (US\$ '000 FOB) 2000	Exportaciones (US\$ '000 FOB) 2001	Exportaciones (US\$ '000 FOB) 2002
México	694	699	111/3M*
Colombia	285	72	33/4M
Perú	51	106	65/5M
Ecuador	58	61	9/4M
Venezuela	14	15	0/5M

Cuadro 2.- Exportaciones de países latinoamericanos en el año 2000-2002.

*Numero de meses que han transcurrido del año 2002 y para los cuales corresponde el valor mostrado

México es el principal exportador de manufacturas de estropajo, principalmente a los Estados Unidos ^[56].

10.1.- Antecedentes químicos del género *Luffa*.

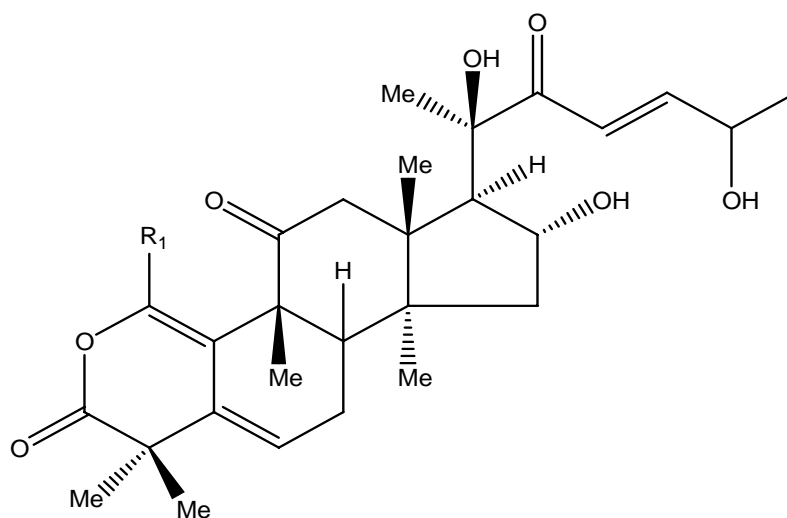
Un estudio fitoquímico realizado con los extractos hidroalcohólicos y acuoso del fruto de *Luffa operculata*, indicó la presencia de flavonoides, taninos hidrosolubles, saponinas, esteroides y triterpenoides. Mientras que de la *Luffa echinata* se aisló la 2-O-acetil, 2-O-β-D-glucopiranosil cucurbitacina B, así como la 2-O-β-D-glucopiranosil cucurbitacina S, junto con las cucurbitacina B, isocucurbitacina B y el dauscosterol ^[57].

La presencia de estas cucurbitacinas coincide con la presencia de estos metabolitos secundarios en especies de la familia Cucurbitaceae. Las cucurbitacinas se caracterizan por tener sabor amargo y que presentan efectos farmacológicos comprobados, tales como actividades purgativas, citotóxica, antitumoral, hematoprotectora y antiinflamatoria ^[58].

La revisión sobre la composición química de semillas de *Curcubita pepo* L. (Cucurbitaceae), reveló la presencia de ácidos grasos y terpenoides, así como, esteroides y carotenoides, cuyas propiedades antiinflamatoria, antimicrobiana y antioxidante han sido avaladas ^[59].

En un estudio fitoquímico realizado de un extracto de diclorometano proveniente de la partición de un extracto metanólico de *L. operculata*, se lograron

aislar 2 nuevas cucurbitacinas denominadas como neocucurbitacina A (**1**) y neocucurbitacina B (**2**) (Figura 11) ^[60].



R1: (1) AcOEt, (2) H.

Figura 11.- Neocucurbitacina A (**1**), neocucurbitacina B(**2**).

De un estudio fitoquímico de las especies *Luffa acutangula* L., *L. aegyptiaca* Mill., se aislaron glicoproteínas que demostraron tener acciones inhibitoras de la síntesis de proteínas embriotoxica y abortiva, estas propiedades fueron demostradas en animales de laboratorio ^[61]. En trabajos realizados de un extracto acuoso del fruto de *Luffa operculata* Cog., se aisló un principio amargo denominado isocucurbitacina B, ^[62].

10.2.- Antecedentes químicos de la especie *Luffa aegyptiaca*.

Los diversos estudios fitoquímicos de *L. aegyptiaca* han demostrado que esta especie principalmente sintetiza saponinas triterpénicas, principalmente derivadas del ácido oleanólico. Así, de hojas de *L. aegyptiaca* se aislaron, dos saponinas triterpénicas, el ácido 3-O-β-D-glucopiranosil maquerinico (**3**) y la 3-O-β-L-glucopiranosil hederagenina (**4**) ^[63] (Figura 12).

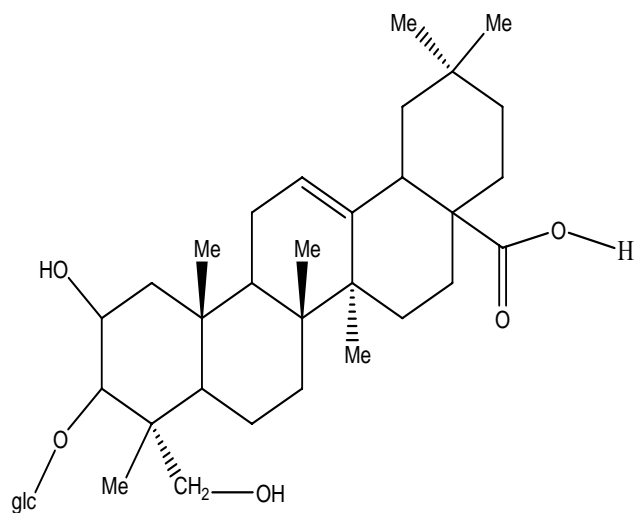
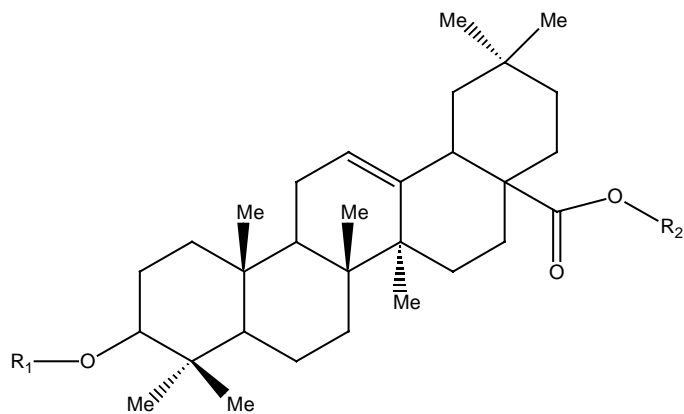


Figura 13.- Estructura química del luciosido I.

Por medio de métodos enzimáticos, hidrólisis y metilaciones de un extracto de semillas de *Luffa aegyptiaca* se logró obtener dos saponinas denominadas como Aegyptina A (**6**) y Aegyptina B (**7**) (Figura 14) ^[67].



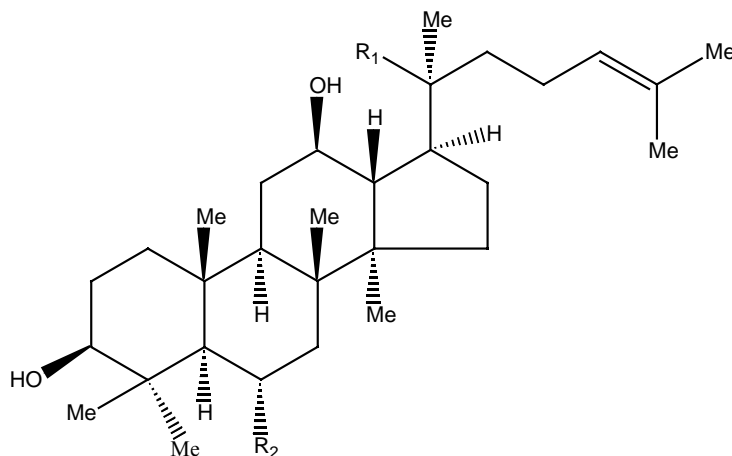
R1:(**6**) ácido glucurónico, glucosa, arabinosa, xilosa, ramnosa, (**7**) ácido glucurónico, galactosa, glucosa, arabinosa, xilosa, ramnosa.

R2:(**6**) arabinosa, xilosa, ramnosa, (**7**) Glucosa

Figura 14.-Aegyptina A (**6**), Aegyptina B (**7**)

En otro estudio de las hojas de esta especie se aisló el luciosido (ácido 3-O-β-D-galactopiranosil-maslínico) un triterpeno pentacíclico [68].

Por otro lado, se ha informado del aislamiento de una saponina I, de un extracto de las partes aéreas de *L. aegyptiaca* con supuestos efectos para controlar la obesidad (Figura 15) [69].



R₁= O-glucosa, R₂= O-glucosa, O-glucosa- ramnosa.

Figura 15.- Estructura química de la Saponina I.

10.3.- Antecedentes farmacológicos de la especie *Luffa aegyptiaca*.

Estudios previos comprobaron la actividad antiviral de varios extractos, de esta especie, contra el virus de la estomatitis vesicular y al virus de la encefalitis japonesa. Además, se ha informado de la actividad antibiótica del extracto etanólico (al 80%) de las partes aéreas de esta especie, frente a la cepa bacteriana *Mycobacterium smegmatis*. Así, como actividad antimalárica del extracto etanólico (al 95%) de hojas secas de esta especie frente al *Plasmodium falciparum* [70].

También se determinó la inhibición de síntesis de proteínas en reticulocitos de conejos de una fracción cromatográfica extraída de las semillas de *Luffa aegyptiaca*. La dosis letal 50 (LD₅₀), evaluada en ratones por la vía intraperitoneal del extracto acuoso de partes aéreas fue de 31μg/kg. Por otro lado, el extracto acuoso y etanólico del fruto presentaron efectos anticoagulantes. Adicionalmente el extracto acuoso metanólico de esta especie activó la enzima angiotensora [70].

Aunado a lo anterior, los ácidos oleanólico (Figura 16) y equinoscístico (Figura 17) aislados de un extracto metanólico de semillas de *Luffa aegyptiaca*, presentaron efectos inmunomoduladores en ratones [71].

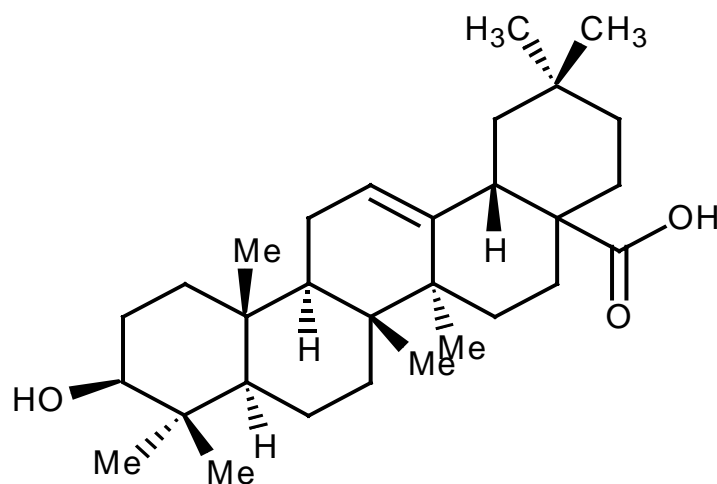


Figura 16.- Estructura química del ácido oleanólico

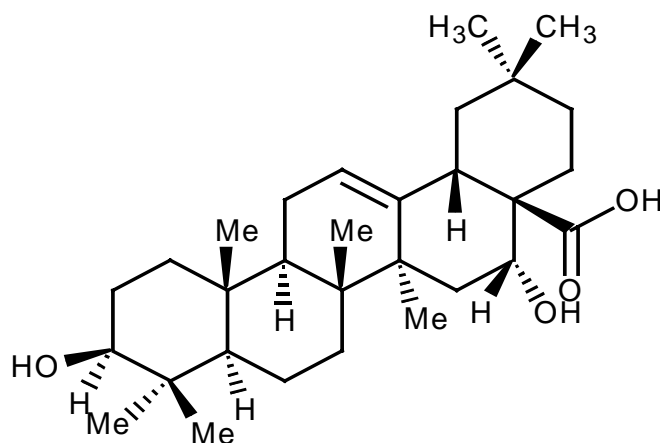
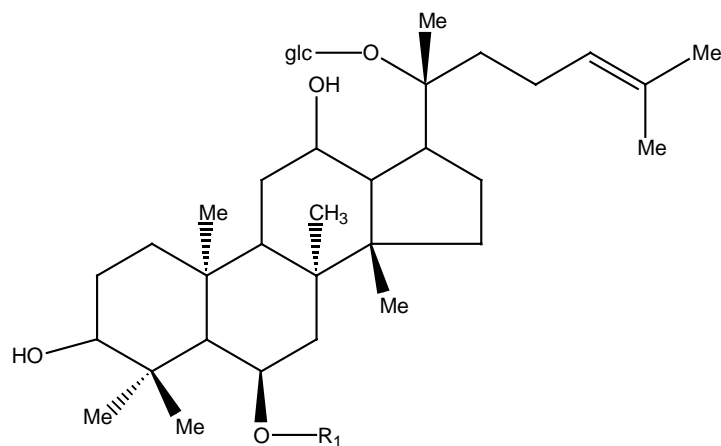


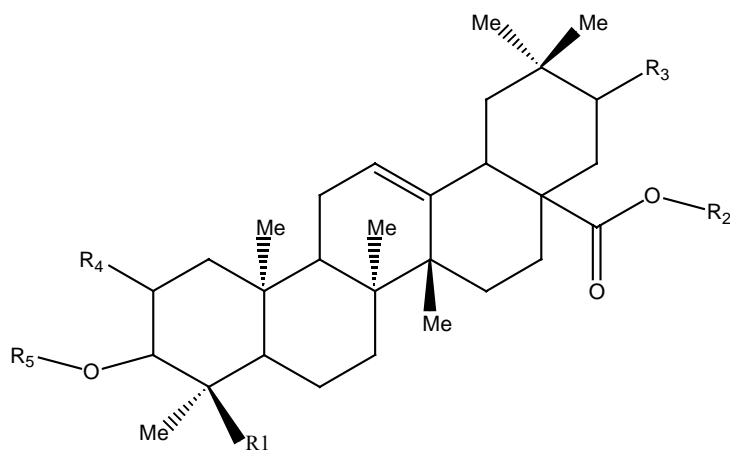
Figura 17.- Estructura química del ácido equinoscístico.

Los compuestos ginsenosido (Figura 18) y luciosido (Figura 19), obtenidos de un extracto metanólico de *Luffa aegyptiaca*, presentaron efectos antiinflamatorios evaluados en pacientes con hemorroides mediante aplicación tópica para aliviar alteraciones alrededor del ano [72].



R1: Me, CH₂OH, CHO.

Figura 18.- Estructura química de ginsenosido



R₁: Me, CH₂OH, CHO, R₂: H, β-D glucopiranosido, R₃: H, OH, R₄: H, OH, R₅: glucosa

Figura 19.- Estructura química de luciosido.

11.- JUSTIFICACIÓN.

La literatura señala que el estropajo (*L. aegyptiaca*) es una planta cultivada y con gran abundancia en México. En algunos estados esta especie es utilizada de manera tradicional, para el tratamiento de diversas patologías asociadas a bacterias y virus.

Por otro lado, no sólo es conocida la amplia distribución de los triterpenos, metabolitos secundarios relacionados al isopreno ^[73], sino que también se conoce que poseen una variedad de propiedades biológicas como: bactericida, fungicida, antiviral, citotóxica, antiinflamatoria, anticancerígena, antialérgica, entre otras. Ejemplo de estos es el ácido oleanólico el cual posee actividades citotóxicas y antiinflamatorias ^[74].

Adicionalmente, existen antecedentes químicos de la especie *Luffa aegyptiaca*, en donde se informa el aislamiento de saponinas y triterpenos del tipo oleanano.

Tomando en cuenta lo anterior, en este trabajo se propone la evaluación citotóxica y antiinflamatoria de extractos y metabolitos secundarios obtenidos de *Luffa aegyptiaca*.

JUSTIFICACIÓN.

La literatura señala que el estropajo (*L. aegyptiaca*) es una planta cultivada y con gran abundancia en México. En algunos estados esta especie es utilizada de manera tradicional, para el tratamiento de diversas patologías asociadas a bacterias y virus.

Por otro lado, no sólo es conocida la amplia distribución de los triterpenos, metabolitos secundarios relacionados al isopreno ^[73], sino que también se conoce que poseen una variedad de propiedades biológicas como: bactericida, fungicida, antiviral, citotóxica, antiinflamatoria, anticancerígena, antialérgica, entre otras. Ejemplo de estos es el ácido oleanólico el cual posee actividades citotóxicas y antiinflamatorias ^[74].

Adicionalmente, existen antecedentes químicos de la especie *Luffa aegyptiaca*, en donde se informa el aislamiento de saponinas y triterpenos del tipo oleanano.

Tomando en cuenta lo anterior, en este trabajo se propone la evaluación citotóxica y antiinflamatoria de extractos y metabolitos secundarios obtenidos de *Luffa aegyptiaca*.

12.-HIPÓTESIS

Se conoce que el ácido oleanólico presenta actividades citotóxicas y antiinflamatorias. Por otro lado, de acuerdo con la literatura, de *L. aegyptiaca* se han aislado triterpenos del tipo oleanano, por lo tanto es factible suponer que los extractos y algunos de los metabolitos aislados de *L. aegyptiaca* presenten actividades antiinflamatorias y citotóxicas.

13.- OBJETIVOS

General:

Aislamiento de metabolitos secundarios con posibles actividades citotóxica y antiinflamatoria de *Luffa aegyptiaca*.

Particulares:

- ✘ Realizar el estudio fitoquímico de la raíz, tallo, hoja, fruto (exocarpo y mesocarpo) y semilla de *Luffa aegyptiaca*.
- ✘ Determinar la actividad citotóxica y antiinflamatoria de los extractos hexánico, acetato de etilo y metanólico de *L. aegyptiaca*.
- ✘ Determinar la actividad citotóxica de los metabolitos aislados.
- ✘ Determinar la actividad antiinflamatoria de los metabolitos aislados.

14.- MATERIAL Y MÉTODO

Material

Columnas cromatograficas de vidrio (6.5 cm de diámetro x 60 cm de largo, 2 cm de diámetro x 25 cm de largo).

Vasos de precipitado.

Matraz kitasato.

Embudo.

Matraz Erlen meyer.

Matraz bola.

Pipetas pasteur.

Pipetas graduadas.

Probeta.

Soporte universal.

Pinzas de tres dedos.

Reactivos.

Hexano

Acetato de etilo

Metanol

Dicloro-metano

Éter isopropilico

Acetona

Agua destilada

Los disolvente utilizados se caracterizan por ser alifaticos, inflamables, incoloros, volátiles, y antes de utilizarlos son previamente destilados en el laboratorio.

Silica gel (MN-Kieselgel)

Placas de cromatografia (60/UV250, Alugram)

EQUIPO

Balanza granataria

Balanza analítica

Rotavapor

Baño Maria

Parrilla de agitación

Canastilla

Lámpara UV

Parrilla de calentamiento

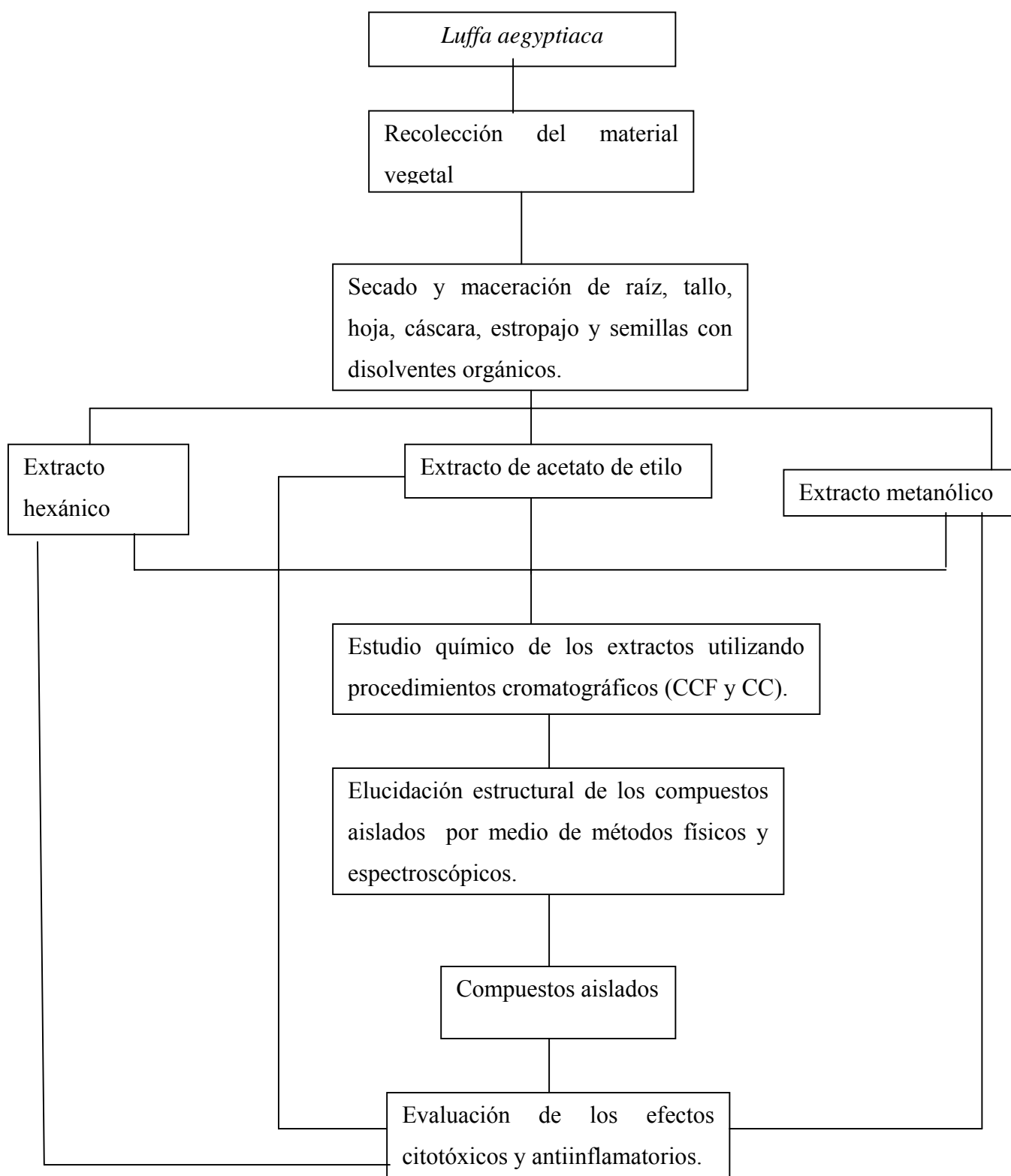
Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Jones, y no están corregidos.

Los espectros de infrarrojo se llevaron a cabo en un espectrómetro Perkin-Elmer modelo 337, en solución empleando como disolvente CHCl_3 .

Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C se determinaron en un espectrómetro Varian XL-300, utilizando como disolvente CDCl_3 y como referencia interna TMS. Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en ppm. Las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hertz. La multiplicidad de las señales se indica como sigue: (s) señal simple, (d) señal doble, (t) señal triple y (m) multiplete.

Los espectros de masas se determinaron en un espectrómetro Hewlett-Packard 59858 con sistema acoplado de CG-EM.

Diagrama de flujo de la parte experimental



14.1.- MATERIAL VEGETAL.

Luffa aegyptiaca se recolectó en el estado de Veracruz, en el rancho San Luis de los Reyes, congregación de los Atlixco, municipio de Alto Lucero, Gutiérrez Barrios Veracruz. El material vegetal se separó en raíz, tallo, hoja, semilla y fruto el cual se dividió en exocarpo y mesocarpo.

14.2.- EXTRACCIÓN.

Cada órgano seco y molido, se pesó (Cuadro3) y se sometió a maceración, sucesivamente con hexano, acetato de etilo y metanol durante cinco días y a temperatura ambiente. La evaporación de los disolventes a presión reducida permitió la obtención de los diferentes extractos.

Órgano	Peso seco (g)
Raíz	204
Tallo	845
Hoja	711
Exocarpo (cáscara)	287
Mesocarpo (estropajo)	825
Semilla	700

Cuadro 3.- Peso seco total, por órgano, de *Luffa aegyptiaca*.

14.3.-Evaluación de la actividad biológica.

14.3.1.-Evaluación de la actividad citotóxica.

Para la evaluación citotóxica tanto de los extractos como de los compuestos obtenidos, se emplearon 6 líneas celulares de cáncer humano: HCT-15 (colon), MCF-7 (mama), K-562 (leucemia mieloblastica crónica), U-251 (sistema nervioso central), PC-3 (próstata) y SKUL-1 (pulmón), provenientes del National Cancer Institute (NCI) de Estados Unidos. La citotoxicidad de los compuestos fue determinada en microcultivos, midiendo la viabilidad y crecimiento celular indirectamente por el método de la sulforrodamina B de acuerdo a los procedimientos validados por el NCI. La metodología se describe a continuación:

Las líneas celulares fueron cultivadas en medio RPMI-1640 el cual es utilizado para linfocitos humanos normales y neoplásicos, con 10% de suero fetal de bovino (SFB) y glutamina 2.0 μM . Las células se mantuvieron en incubación en un ambiente saturado de humedad en una atmósfera de 5% de CO_2 y a 37° C. Posteriormente la células que se adhirieron a los frascos de cultivo fueron removidas suavemente con una solución de tripsina-EDTA al 0.05% utilizando una pipeta. La determinación de la densidad y de la viabilidad de las líneas celulares se llevó a cabo en un hematocitometro, utilizando la técnica de exclusión con azul de tripano.

Después de que se contaron las células, se hizo una dilución para obtener una densidad adecuada. La suspensión celular se sembró en placas de 96 pozos. Todas las líneas celulares se incubaron por un periodo de 24 horas a 37 °C y fueron estabilizadas antes de adicionar los compuestos a evaluar.

Los compuestos fueron evaluados a una concentración de 50 μM y solubilizados en dimetil sulfóxido (DMSO), las disoluciones preparadas fueron depositadas en cada uno de los pozos y estos fueron incubados por 48 horas a 37° C, en una atmósfera de 5% de CO_2 y 100% de humedad.

Posteriormente a la incubación, los cultivos celulares fueron fijados *in situ* con 50 μL de ácido tricloroacético frío (50% m/v) y se incubaron 1 hora a 4 °C. Transcurrido este tiempo, se procedió a decantar el sobrenadante y los cultivos se lavaron 5 veces con agua

desionizada. Posteriormente, a cada pozo se le adicionaron 100µL de solución de sulforrodamina B (0.4% p/v en ácido acético al 1%), después de 10 minutos el exceso de sulforrodamina se removió lavando 5 veces con ácido acético al 1%. Finalmente se obtuvo el botón de células y se solubilizó con buffer tris, para determinar su densidad óptica en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 515 nm (Lector de ELISA BIO-TEK, ELx 808), densidad óptica inversamente proporcional al grado de citotoxicidad de un compuesto de prueba y proporcional al crecimiento celular. El compuesto de referencia de actividad utilizado fue doxorubicina.

14.3.2.-Actividad antiinflamatoria.

La evaluación de la actividad antiinflamatoria tanto de los extractos como de los compuestos se realizó utilizando el método de inducción de edema por el 13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (TPA), siguiendo la metodología propuesta en 1994 por Della

La disolución de TPA, se preparó disolviendo 2.5 µg de 13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol en 10 µL de etanol. Posteriormente se administró en el pabellón de la oreja derecha de los ratones (5µL en cada lado).

El compuesto a evaluar y los fármacos de referencia se aplicaron 10 minutos después de la inducción de la inflamación por TPA. Se empleó indometacina como fármaco de referencia.

La oreja izquierda sirvió como control (-), primero se administraron 10 µL de etanol y luego 20 µL del vehículo correspondiente. Después de 4 horas los animales se sacrificaron por dislocación cervical y se obtuvieron los pesos de ambas orejas.

La diferencia en peso entre ambas muestras se consideró como medida de edema. Se calculó el porcentaje de inhibición del edema, el cual está definido por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = (C_r - C_t) / (C_r) \times 100$$

En donde C_r y C_t corresponden respectivamente al peso de la muestra de oreja tratada con TPA y la tratada con TPA más el compuesto a evaluar.

Los datos se analizaron por un análisis de varianza de la prueba de Dunnet. Se calculó para cada compuesto el valor de la dosis efectiva 50 (ED_{50}), mediante un análisis de regresión lineal construido al menos por tres puntos significativos, siendo cada punto el promedio del porcentaje de inhibición correspondiente a cada dosis.

14.4.- Análisis cromatográfico.

Para la separación y purificación por cromatografía en columna se utilizaron como fase estacionaria gel de sílice MN-Kieselgel G (Macherey-Nagel) en columnas de vidrio de diferentes capacidades de acuerdo a la cantidad de muestra a analizar, y como fase móvil, se utilizaron disolventes con diferentes polaridades que son hexano, acetato de etilo, metanol, así como mezclas entre ellos.

Para la cromatografía en capa fina se utilizaron, placas de aluminio recubiertas de gel de sílice (silical gel 60/UV250, Alugram), y se utilizó como revelador luz UV y/o sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2 N.

14.4.1.-Fraccionamiento de los extractos hexánicos.

El fraccionamiento de un extracto hexánico de tallo se llevo a cabo colocando 6 g. del extracto adsorbido en gel de sílice en una columna cromatografica de vidrio. Como fase móvil se empleó hexano y se aumentó la polaridad gradualmente con mezclas de hexano- acetato de etilo y acetato de etilo-metanol, con un volumen por fracción de 250 mL. En el cuadro 4 se muestran las fracciones obtenidas, así como los disolventes utilizados para llevar a cabo el fraccionamiento.

Disolvente	Fracciones
Hexano	1-14
Hex- AcOEt (9:1)	15-39
Hex- AcOEt (8:2)	40-49
Hex- AcOEt (7:3)	50-66
Hex- AcOEt (1:1)	67- 78
AcOEt	79- 82
AcOEt- Metanol (9:1)	83-85
Metanol	86-89

Cuadro 4.- Fracciones totales obtenidas de la columna del extracto hexánico de tallo.

El fraccionamiento del extracto hexánico de semillas, se realizó colocando 100 g. de extracto adsorbido en gel de sílice en una columna cromatografica de vidrio. Como fase móvil se utilizó hexano. Se aumentó la polaridad gradualmente con mezclas hexano-acetato y acetato-metanol, con un volumen por fracción de 250 mL.

En el cuadro 5 se muestran las fracciones obtenidas, y los disolventes utilizados para llevar a cabo el fraccionamiento.

Disolvente	Fracciones
Hexano	1- 9
Hex- AcOEt (9:1)	10- 15
Hex- AcOEt (8:2)	16-21
Hex- AcOEt (7:3)	21-26
Hex- AcOEt (1:1)	27-30
AcOEt	31-35
AcOEt- Metanol (9:1)	36- 40
Metanol	42-45

Cuadro 5.- Fracciones totales obtenidas de la columna del extracto hexánico de semillas.

Debido a que se obtuvo gran cantidad de aceite, se llevó a cabo la separación por cromatografía en columna, de la fracción número 10 de la columna cromatográfica trabajada del extracto hexánico de semillas, esto con el fin de separar los compuestos contenidos en el aceite.

El fraccionamiento de la fracción número 10 de la columna del extracto hexánico de semilla, se llevó a cabo colocando el aceite con un peso de 14 g. adsorbido en gel de sílice en una columna cromatográfica de vidrio. Como fase móvil se empleó hexano y se aumentó la polaridad gradualmente con mezclas de hexano-acetato de etilo y acetato de etilo-metanol, con un volumen por fracción de 10 mL. En el cuadro 6 se muestran las fracciones obtenidas, así, como los disolventes utilizados para llevar a cabo el fraccionamiento.

Disolvente	Fracciones
Hexano	3
Hex- AcOEt (95:5)	4-7
Hex- AcOEt (9:1)	8-12
Hex- AcOEt (8:2)	13-18
Hex- AcOEt (7:3)	19-24
Hex- AcOEt (1:1)	25-29
AcOEt	30-33
Metanol	34-37

Cuadro 6.- Fracciones totales obtenidas de la columna de la fracción número 10, de la columna del extracto hexánico de semillas.

14.4.2.-Fraccionamiento de los extractos de acetato de etilo.

El fraccionamiento del extracto de raíz, se llevó a cabo colocando 2.25 g. de extracto adsorbido en gel de sílice en una columna cromatográfica de vidrio. Como fase móvil se empleó hexano y se aumentó la polaridad con mezclas de hexano-acetato de etilo y acetato de etilo-metanol, con un volumen por fracción de 150 mL. En el cuadro 7 se muestran las fracciones obtenidas, así, como los disolventes utilizados para llevar a cabo el fraccionamiento.

Disolvente	Fracciones
Hexano	1
Hex- AcOEt (1:1)	2-14
Hex- AcOEt (2:1)	15-27
AcOEt	28-39
Metanol	40- 42

Cuadro 7.- Fracciones totales obtenidas de la columna del extracto de acetato de etilo de raíz.

El fraccionamiento del extracto de tallo, se llevo a cabo colocando 11.41 g. de extracto adsorbido en gel de sílice en una columna cromatográfica de vidrio. Como fase móvil se empleo hexano y se aumentó la polaridad gradualmente con mezclas de hexano- acetato de etilo y acetato de etilo-metanol, con un volumen por fracción de 250 mL. En el cuadro 8 se muestran las fracciones obtenidas, así, como los disolventes utilizados para llevar a cabo el fraccionamiento.

Disolvente	Fracciones
Hexano	1-9
Hex- AcOEt (1:1)	10- 36
Hex- AcOEt (2:1)	37- 47
AcOEt	48- 57
Metanol	57- 64

Cuadro 8.- Fracciones totales obtenidas de la columna del extracto de acetato de etilo de tallo.

El extracto de hoja fue percolado mediante una columna cromatografica de vidrio, la cual contenía tonsíl. Como fase móvil se empleó hexano y se aumentó la polaridad gradualmente con mezclas de hexano-acetato de etilo y acetato de etilo-metanol, con un volumen por fracción de 250 mL. En el cuadro 9 se muestran las fracciones obtenidas, así como los disolventes utilizados para llevar a cabo la despigmentación de este.

Disolvente	Fracciones
Hexano	1
Hex- AcOEt (9:1)	2- 5
Hex- AcOEt (8:2)	6- 12
Hex- AcOEt (7:3)	13- 20
Hex- AcOEt (1:1)	21- 25
AcOEt	26- 32
AcOEt- Metanol (9:1)	33- 35
Metanol	36-40

Cuadro9.- Fracciones totales obtenidas de la columna del extracto de acetato de etilo de hoja.

14.4.3.-Fraccionamiento de los extractos metanólicos.

El fraccionamiento del extracto metanólico de semilla se llevó a cabo colocando 33.79 g. de extracto, adsorbido en gel de sílice en una columna cromatográfica de vidrio. Como fase móvil se empleó hexano y se aumentó la polaridad gradualmente con mezclas de hexano- acetato de etilo y acetato de etilo – metanol, con un volumen por fracción de 250 mL. En el cuadro 10 se muestran las fracciones obtenidas, y los disolventes utilizados para llevar a cabo el fraccionamiento.

Disolvente	Fracciones
Hexano	1- 8
Hex- AcOEt (9:1)	9 - 12
Hex- AcOEt (8.5 :1.5)	13- 18
Hex- AcOEt (8: 2)	19- 24
Hex- AcOEt (7: 3)	25- 30
hex- AcOEt (1:1)	31- 35
AcOEt	36- 40
AcOEt- metanol (9:1)	41- 50
AcOEt- metanol (8: 2)	51- 59
AcOEt- metanol (7:3)	60- 65
Metanol	66- 70

Cuadro 10.- Fracciones totales obtenidas de la columna del extracto metanólico de semillas.

El fraccionamiento del extracto de mesocarpo (estropajo) se llevó a cabo colocando 40 g. de extracto, adsorbido en gel de sílice en una columna cromatografica de vidrio. Como fase móvil se empleo hexano y se aumentó la polaridad gradualmente con mezclas de hexano-acetato de etilo y acetato de etilo-metanol, con un volumen por fracción de 250 mL. En el cuadro 11 se muestran las fracciones obtenidas, así como los disolventes utilizados para llevar a cabo el fraccionamiento.

Disolvente	Fracciones
Hexano	1- 3
Hex- AcOEt (9:1)	4- 11
Hex- AcOEt (8: 2)	12- 28
Hex- AcOEt (7: 3)	29- 38
Hex- AcOEt (1:1)	39- 47
AcOEt	48- 52
AcOEt- metanol (9:1)	53- 58
AcOEt- metanol (8: 2)	59- 62
AcOEt- metanol (7:3)	63- 68
Metanol	69- 78

Cuadro 11.- Fracciones totales obtenidas de la columna del extracto metanólico de mesocarpo (estropajo).

15.- RESULTADOS

En esta sección se muestran los resultados obtenidos. Una vez obtenidos los extractos orgánicos, se realizaron los experimentos para verificar su toxicidad. Posteriormente se probó la actividad antiinflamatoria de cada extracto. Simultáneamente se realizó el fraccionamiento químico, así, como la elucidación de los compuestos derivados de dicho fraccionamiento los cuales también fueron evaluados para verificar su toxicidad y su actividad antiinflamatoria.

Productos aislados de los extractos hexánico, acetato de etilo y metanol, algunos por cromatografía en columna, y otros por precipitación inducida.

La evaporación del disolvente a presión reducida, del extracto hexánico de raíz, indujo la precipitación de 38 mg de un sólido blanco amorfo. Este sólido fue purificado por medio de precipitaciones sucesivas con MeOH. Obteniéndose un sólido de color blanco opaco, con un p.f. de 166-169 °C. La comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con aquellos publicados permitió la identificación de este compuesto como estigmasterol.

Este esteroles, también se aisló a partir de las fracciones 6-15 de la columna cromatografica del extracto hexánico de tallo^[75].

Del extracto hexánico de mesocarpo (estropajo) se obtuvieron 86 mg. de un precipitado, el cual, se obtuvo por medio de lavados con metanol caliente y filtrados al vacío. Este sólido de color blanco, presentó un p.f. de 168 °C. Sin embargo, la cromatografía en placa delgada reveló que se trataba de una mezcla, por lo que se decidió someterlo a una reacción de acetilación. Sin embargo, a pesar de la reacción, el producto no se logró purificar, hecho que fue patente en los espectros de resonancia magnética nuclear. Lo escaso de la cantidad de este producto no permitió su elucidación estructural.

A partir de las fracciones 29- 35 (7: 3 Hex- AcOEt) de la columna cromatográfica del extracto metanólico del mesocarpo (estropajo), se obtuvo 1.15 g. de sólido, con un p.f de 140 C°, el cual se trató de purificar con mezclas de hexano- éter isopropílico. También se intentó purificar mediante una cromatografía en columna y

placa preparativa sin éxito. Por lo que se procedió a realizar una reacción de acetilación. El producto de esta reacción fue tratado con hexano lo que permitió obtener un sólido café claro. El cual después de varios lavados se logró purificar, y fue identificado como el acetato de cucurbitacina B mediante la comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con aquellos publicados en la literatura para este compuesto.

Esta es la primera vez que se aísla este compuesto para la especie *Luffa aegyptiaca*.

15.1.-Análisis químico

El estudio fitoquímico proporcionó tres compuestos. Uno de ellos fue 24- etil-5,22- colestadien-3beta-ol comúnmente conocido como estigmasterol (Figura 23), aislado de los extractos hexánicos de raíz y tallo. La identificación de este compuesto se logró por comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con muestra auténtica.

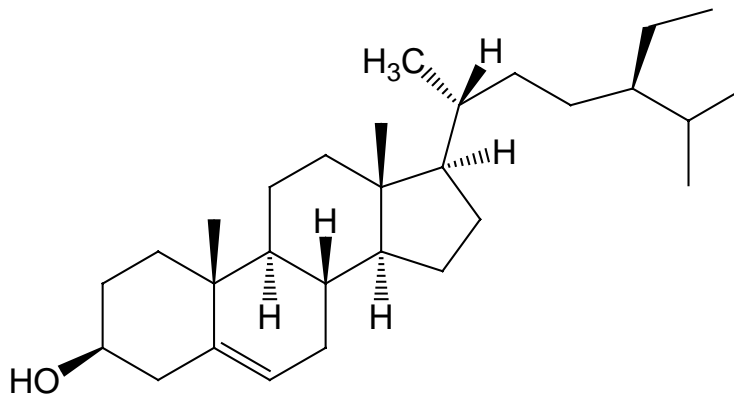


Figura 23.-Estructura química del estigmasterol.

Un segundo compuesto se logró obtener del extracto hexánico del estropajo, sin embargo, la poca cantidad aislada no permitió su elucidación estructural.

El tercer compuesto se aisló del extracto metanólico del estropajo. La comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con aquellos de la literatura permitió identificar a este compuesto como la cucurbitacina B (19-norlanosta-5,23-dieno-3,11,22-triona, 25-(acetiloxi)-2,16,20-trehidroxi-9-metil(2 β ,9 β ,10 α ,16 α ,23E) (Figura 24).

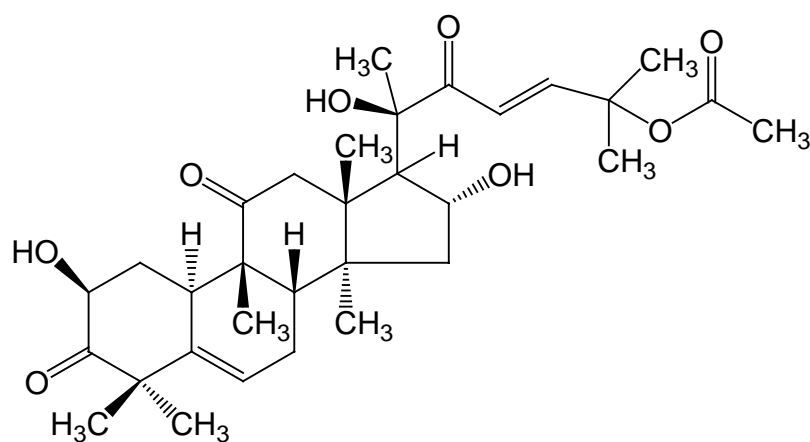


Figura 24.- Estructura química de cucurbitacina B.

También se logró aislar 150g de aceite del extracto hexánico y 70g de otro aceite del extracto de acetato de etilo, ambos extractos obtenidos de las semillas. El espectro de IR del extracto hexánico mostró bandas en 2925.96, 2855.23, 1744.85 y 1741.15 cm^{-1} típicas de compuestos de características lipofílicas.

15.2.- Obtención de extractos.

El rendimiento de cada extracto se muestra en el cuadro 12.

Órgano	Peso seco (g)	Peso extracto hexánico (g)	Peso extracto de AcOEt (g)	Peso extracto metanólico (g)
Raíz	204	1.57 (0.76)	2.25(1.10)	2.99(1.46)
Tallo	845	6.35(0.75)	11.41(1.35)	116.42(13.77)
Hoja	711	6.73(0.94)	13.83(1.95)	95.101(13.37)
Exocarpo (Cáscara)	287	3.31(1.15)	5.78(2.01)	33.99(11.84)
Mesocarpo (Estropajo)	825	5.32(0.64)	-	45.82(5.55)
Semilla	700	159.27(22.75)	81.58(11.65)	33.79(4.82)

Cuadro 12.-Rendimiento de cada órgano de *Luffa aegyptiaca*.

15.3.-Actividad farmacológica.

15.3.1.- Citotoxicidad.

Los extractos orgánicos mostraron actividad citotóxica variable al ser evaluado en 6 líneas celulares de cáncer, con un ensayo de tamizaje (screening) primario, y una concentración de 50 μ M, utilizando como vehículo DMSO. A continuación se muestran los resultados obtenidos para cada uno de los extractos.

Extractos hexánicos.

Líneas celulares cancerosas humanas	raíz	hoja	tallo	estropajo	semillas	cáscara
	% de inhibición del crecimiento celular					
U251	6.2	21.0	84	<u>100</u>	24.1	10.2
PC-3	5.0	38.5	57.9	<u>100</u>	48.7	27.1
K562	71.7	93.0	95.3	<u>100</u>	44.5	90.6
HCT-15	sa	41.2	<u>100</u>	<u>100</u>	51.07	44.4
MCF-7	41.2	78.3	95.5	<u>100</u>	48.8	72.5
SKUL-1	20.4	28.0	<u>100</u>	<u>100</u>	46.5	24.7

Cuadro 13.- Porcentaje de inhibición de crecimiento celular de extractos hexánicos.

U251= glia de sistema nervioso central, PC-3= próstata, K562= leucemia, HCT-15= colon, MCF-7= mama, SKUL= pulmón.

Se observa que de los 6 extractos hexánicos evaluados, solo el extracto de estropajo, fue el que inhibió el crecimiento celular en un 100%, en las 6 líneas celulares. Mientras que para el extracto de tallo solo se dió la inhibición en un 100%, en las líneas de colón y pulmón, y un 95% para mama y leucemia, para las dos líneas restantes su porcentaje de inhibición es mayor al 50%.

Para el resto de los extractos se observa una afinidad hacia la línea de leucemia con porcentajes del 90%, excepto para semillas, en el cual no mostró actividad por arriba del 50% en ninguna línea.

Esto permite inferir que cada órgano de la planta, actúa de distinta manera en las líneas celulares de cáncer, posiblemente debido a la presencia de diferentes metabolitos secundarios en los extractos.

En este caso el estropajo es el que tuvo una mayor actividad, a pesar de que se reporta en la bibliografía ^[76], que las raíces son la parte de la planta que presenta mayores concentraciones de metabolitos secundarios, pero también en orden decreciente es seguida por los frutos, cotiledones, hojas y semillas. Esto debido a que el fruto es un órgano de protección para la semilla, lo que hace que produzca sustancias tóxicas para defensa de sus depredadores, algunos de ellos insectos, en su mayoría para la familia Cucurbitaceae son los pertenecientes al género *Diabrotica* ^[76].

Un proceso de precipitación inducida del extracto hexánico del mesocarpo (estropajo), permitió la obtención de un sólido el cual debido a su escasa cantidad no fue posible elucidar su estructura ni evaluar su actividad biológica.

Extractos de acetato de etilo.

Líneas celulares cancerosas humanas	raíz	hoja	tallo	semillas	cáscara
	% de inhibición del crecimiento celular				
U251	87.0	38.9	89.3	38.6	<u>100</u>
PC-3	61.5	40.7	62.2	39.1	83.7
K562	90.3	96.7	97.8	92.8	94.6
HCT-15	53.0	77.2	67.3	45.8	73.4
MCF-7	86.3	96.2	89.6	49.9	<u>100</u>
SKUL-1	98.8	58.5	<u>100</u>	42.8	<u>100</u>

Cuadro 14.- Porcentaje de inhibición de crecimiento celular de extractos de acetato de etilo.

U251= glia de sistema nervioso central, PC-3= próstata, K562= leucemia, HCT-15= colon, MCF-7= mama, SKUL= pulmón.

Para los extractos de acetato de etilo se observa que el extracto del exocarpo (cáscara) fue el que inhibió en un 100% el crecimiento de las líneas de cáncer de mama, pulmón y glia de sistema nervioso central. Por su parte los demás extractos solo tuvieron respuesta en más de un 90% en la línea de cáncer de leucemia. Para el extracto de tallo se obtuvo un 100% de inhibición en la línea de cáncer de pulmón y para el extracto de raíz se obtuvo un 98.8% en esa misma línea celular y un 90.3% en la línea de leucemia.

Esto muestra que los extractos tratados con acetato de etilo, tienen una mayor actividad en las 6 líneas celulares en comparación con los extractos hexánicos, ya que la mayoría de los extractos tuvo respuesta frente a las 6 líneas.

Esto podría estar relacionado con los diferentes metabolitos secundarios presentes en los extractos de las diferentes partes de la planta^[77].

Extractos metanólicos.

Líneas celulares cancerosas humanas	raíz	hoja	tallo	estropajo	semillas	cáscara
	% de inhibición del crecimiento celular.					
U251	sa	sa	sa	sa	<u>100</u>	6.6
PC-3	20.9	26.4	26.7	10.2	94.9	18.2
K562				1.5	90.5	
HCT-15	sa	9.05	39.5	2.6	90.6	46.9
MCF-7	sa	sa	sa	nd	84.9	sa
SKUL-1	19.73	10.3	17.7	17.1	<u>100</u>	31.8

Cuadro 15.- Porcentaje de inhibición de crecimiento celular de extractos metanólicos.

sa= sin actividad

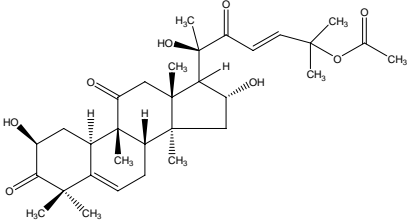
U251= glia de sistema nervioso central, PC-3= próstata, K562= leucemia, HCT-15= colon, MCF-7= mama, SKUL= pulmón.

Con respecto a los extractos metanólicos, solo el correspondiente al extracto de semilla mostró un 100% de inhibición en: glía de sistema nervioso central y pulmón, mientras que para las otras líneas mostró actividad pero sin llegar a la inhibición total.

Para los demás extractos, solamente se observó una actividad no mayor al 40%, y en algunos casos fue inactiva como en el caso de la línea de cáncer de mama, y el de glia de sistema nervioso central.

Metabolitos secundarios

Con respecto a los metabolitos secundarios obtenidos, se muestra en el cuadro 17 la actividad citotóxica de la cucurbitacina B.

Línea celular	Inhibición del crecimiento celular (50µM) (%)					
	PC-3	U251	HCT-15	K562	SKUL-1	MCF-7
 <p>Cucurbitacina B</p>	<u>100</u>	<u>100</u>	<u>100</u>	32.8	<u>100</u>	<u>100</u>

Cuadro 17.- Porcentaje de inhibición de actividad citotóxica de cucurbitacina B.

Los resultados muestra que este compuesto inhibió el crecimiento celular en un 100% en todas las líneas celulares excepto para leucemia.

De manera significativa la cucurbitacina B es predominante y esta presente en más del 90% de plantas de la familia cucurbitaceae.

En estudios recientes, han demostrado que la cucurbitacina B, aislada de otras fuentes naturales, reduce los niveles de bilirrubina directa y bilirrubina total en plasmas [79]. Además, se ha demostrado que algunas cucurbitacinas como la I, y D, inhiben la proliferación de distintos tipos de células tales como, linfocitos, células HeLa y células endoteliales [80]. También han mostrado afecto hacia la estructura de células de carcinoma en próstata [81].

15.3.2.-Evaluación de la actividad antiinflamatoria de los extractos hexánicos, acetato de etilo y metanólicos.

Los extractos orgánicos mostraron actividad antiinflamatoria variable al ser evaluado en el modelo del TPA. Se observó que la actividad antiinflamatoria dependía del extracto administrado. A continuación se muestran los resultados obtenidos para cada uno de los extractos.

Cuadro 16.- Porcentaje de inhibición de edema (TPA) de los extractos hexánicos, acetato de etilo y metanólico.

Los datos representan el promedio de tres o cuatro animales \pm el error estándar de la media ($x \pm$ EEM). Los resultados se analizaron mediante una prueba de t de Student y los valores de $p < \alpha = 0.05$ y $p < \alpha = 0.01$, se consideraron como diferencia significativa con respecto al control.

Extracto	Inhibición del edema (%)					
	raíz	tallo	hoja	cáscara	estropajo	semillas
hexano	50.51	62.01	47.18	52.89	67.69	71.62
acetato de etilo	82.28	90.71	40.93	45.63	-	76.42
metanol	29.81	27.12	53.27	45.00	27.88	32.96

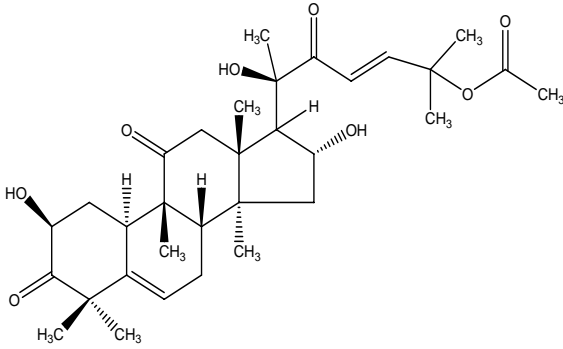
Para los extractos hexánicos, se observa un porcentaje de inhibición alto en los extractos de semillas, estropajo, tallo, cáscara y raíz, considerando un porcentaje de inhibición por arriba del 50%. Sin embargo, el único extracto que no tuvo una actividad antiinflamatoria considerablemente buena, fue el extracto de hoja con un 47.18%.

En los extractos de acetato de etilo se observa un porcentaje mayor en comparación al de hexano, esto en algunos extractos como el caso en orden decreciente de tallo, raíz y semillas, para cáscara y hoja su actividad no rebasó el 50% de inhibición.

Sin embargo, para los extractos metanólicos se observa sólo un 53.27% de inhibición del extracto de hoja, ya que para los demás no se alcanza un valor mayor al 45%.

METABOLITOS SECUNDARIOS

Con respecto a los metabolitos secundarios aislados, en el cuadro 18 se muestra la actividad antiinflamatoria de la cucurbitacina B.

Compuesto aislado	Inhibición (%)
 <p data-bbox="432 1193 660 1227">Cucurbitacina B</p>	<p data-bbox="1123 882 1198 916">71.65</p>

Cuadro 18.- Porcentaje de inhibición de edema (TPA) de cucurbitacina B.

La cucurbitacina B, a la dosis de 0.31mg/oreja, mostró un porcentaje de inhibición de edema de 71.65%, en el modelo del TPA en ratón. Este resultado está en total acuerdo con el hecho de que esta cucurbitacina reduce significativamente la concentración de la prostaglandina pro inflamatoria PGE2. También se ha informado la inhibición del edema inducida por carragenina en animales de laboratorio ^[82].

Aún más, otros estudios reportan que la cucurbitacina B inhibe, a una concentración de 100 µg/mL, la ciclooxigenasa 2 (COX-2), una enzima que cataliza la formación de varios compuestos pro inflamatorios. La ciclooxigenasa 1 (COX-1) no es inhibida a esta concentración ^[83]. Cabe señalar que la COX-2 es inducible y se activa en situaciones patológicas como respuesta a citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-6 y FNT-α); algunos factores de crecimiento y el lipopolisacárido (LPS). Su expresión se inhibe por citocinas antiinflamatorias y fármacos esteroidales ^[84, 85].

La cucurbitacina B tiene actividad antitumoral, evaluada *in vitro* en células KB con una ED₅₀ de 0.005-0.01 µg/mL y en células HeLa con una ED₅₀ de 0.005-0.05 µg/mL. Y también inhibe la síntesis de ADN en células HeLa ^[86].

Debido a que se conocen las propiedades antiinflamatorias, analgésicas ^[87], anti- edematogénicas, anti- viral y anti- hepatotóxico ^[88] del estigmasterol no se realizaron evaluaciones biológicas para este esteroide. Adicionalmente, se ha informado como preventivo de cáncer de ovario, próstata, mama y colon ^[89]. Así como también, se utiliza en la elaboración de progesterona sintética, hormona sexual femenina, la cual juega un papel importante en la fase lútea del ciclo menstrual ^[90].

Por estos resultados se puede inducir que algunos extractos como es raíz y tallo, se observa que tiene buena actividad tanto citotóxica como antiinflamatoria en el extracto de acetato de etilo.

Para el extracto de semilla se observa buena actividad antiinflamatoria en los tres extractos, y solo buena actividad citotóxica en el extracto metanólico.

En relación al estropajo se observa una muy buena actividad citotóxica como antiinflamatoria en el extracto hexánico.

Y por ultimo para cáscara es el único caso en el cual se muestra una buena actividad citotóxica en el extracto de acetato de etilo, y una actividad antiinflamatoria buena en el extracto hexánico.

Para la hoja se observa una actividad citotóxica, regular en los extractos hexánicos y de acetato de etilo, mientras que para la actividad antiinflamatoria se observa una actividad regular en el extracto metanólico.

Como se observa cada órgano de la planta, muestra actividades diferentes en sus diferentes polaridades, en ambas pruebas biológicas, esto nos puede indicar que quizás exista una cierta relación en la actividad citotóxica y antiinflamatoria, que hace que actúen de manera similar cada órgano en los mismos disolventes.

16.-CONCLUSIONES

No obstante que estudios previos mostraban una presencia casi constante de derivados del ácido oleanico en *Luffa aegyptiaca*, en este estudio fitoquimico, no se aislaron compuestos de este tipo. Sin embargo se logró aislar estigmasterol, y cucurbitacina B, siendo esta la primera vez que se aísla de esta especie.

Los resultados de citotoxicidad para los extractos hexánicos de raíz, tallo, hoja, estropajo y cáscara muestran una selectividad hacia la línea celular de leucemia. Mientras que para los extractos de acetato de etilo se muestra una selectividad hacia la línea celular de leucemia y mama. Y para los extractos metanólicos no se muestra alguna inclinación hacia alguna línea celular, ya que el único órgano que mostró actividad fueron las semillas.

Para la actividad antiinflamatoria de los extractos, se muestra que de los extractos hexánicos, solo el de hoja no mostró una alta actividad, mientras que para los extractos de acetato de etilo se observa una vez mas que el de hoja, así como el de cáscara, no tienen una alta actividad, y por ultimo se observa que el extracto metanólico de hoja fue el único activo en esta prueba.

Mientras que para la cucurbitacina B, metabolito aislado del extracto metanólico del estropajo, mostró una actividad citotóxica del 100% de inhibición en el crecimiento de 5 líneas celulares, excepto para leucemia. Así como una actividad antiinflamatoria de 71.65% de inhibición de edema inducido por TPA.

17.- LITERATURA CITADA.

- 1.- Sarmiento, F. M., Herbolaria mexicana. Revista México desconocido. **2001**; 12(4): 13-15.
- 2.- Hutterer, E. O., La medicina tradicional cuestionada: antecedentes, perspectivas y prospectivas en México y Latinoamérica. 2^a ed. Extra excell. México D.F. **2000**; p.135-140.
- 3.- Mannfried, P., Gran manual de plantas medicinales. 3^a ed. Everest. México D.F. **2002**; p.165.
- 4.- Martínez, M., Las plantas medicinales de México. 6^a.ed. Botas. México D.F. **1996**; p. 656.
5. – Rzedowski, J., Diversity and origins of the phanerogamic flora of Mexico. En: Biological diversity of México: origins and distribution, **1993**; p. 129-144. Ramamoorthy T. P., Bye, R., Lot, A. y Fa, J. Oxford University Press. New York.
6. – Ramamoorthy, T. P., Bye, R., Lot, A., y Fa, J. Diversidad biológica de México: orígenes y distribución. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. **1998**; p. 689-713.
- 7.- Martínez, A. M. Estado actual de las investigaciones etnobotánicas en México. Boletín de la Sociedad Botánica de México. **1994**; 55: 65-74.
- 8.- WHO. World Health Organization <http://www.who.int/cancer/en/> abril/2006.
- 9.-Coussens, L. M., Z. Werb. Inflammation and Cancer. Nature. **2002**; 420: 860-867
10. - Gibbs, J. B., Biology molecular and cancer of cell. Science. **2000**; 287: 1969-1973.
- 11.-Carmona, D. S., Tesis de Maestría. Programa de Postgrado en Ciencias Químicas UNAM. **2004**. p.35-47.

- 12.-Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. “Información sobre tumores malignos”, boletín del 3 de febrero de **2005** basado en Estadísticas Vitales 2002, Base de datos y Estadísticas demográficas 2003. www.inegi.gob.mx.
- 13.-Parra H., M.C. Compadre, A. Ramírez T., F. Muñoz., P. Ostrosky-Wegman, M. Martínez. Cáncer. Bioorg. and Med. Chem. Lett. **2006**; 14: 1889-1901.
14. - Chabner B. A., T. J. Roberts. Anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. Nature. **2005**; 5: 65-72.
- 15.- Bertino J. R., Cap. 58, Quimioterapia del cáncer. Farmacología, Bases Bioquímicas y Patológicas. Aplicaciones Clínicas. Interamericana. México. **1984**; p. 134-141
- 16.-Watkins S., F. R. Fronczek, G. Chiari, G.W. Reynolds, E. Rodriguez. Pharmacology and Medicine. Journal of Natural Products. **1985**; 48: 631.
17. - Laza L. D., L. I. Rodríguez. Revista Cubana de Plantas Medicinales. **2003**; 8: 1028-4796 [on line].
- 18.- Hartwell J. L. Plants used against cancer. Quaterman Publications. 1982; 35: 329.
- 19.- Calabresi P., B. Chabner. Quimioterapia de las enfermedades neoplásicas En Hardman, Goodman and Gilman, Las bases Farmacológicas de la terapéutica. McGraw-Hill/Interamericana. **1996**; p. 235- 241.
20. - Cragg G. M., Y. Newman, D. J., Plants as source of anti-cancer agents. Journal of Ethnopharmacology. **2005**; 100(1-2): 72-79.
- 21.-Matsubara C., A. de Vivar. *Podophyllum peltatum*. Phytochemistry. **1985**; 24:613.

22. - Mann J. *Taxus brevifolia*. Nature Reviews. **2002** ; 2:143-148.
- 23.- Phuwapraisirisan P., S. Surapinit, S. Sombund, S. Pongpun, T. Santi. Coumarins. Tetrahedron Letter. **2006**; 47:3685–3688.
- 24.- Gonzalez de Mejia A., S. Chandra, M. Martínez, W. Wang. Flavonoids. Food and Chemical Toxicology. **2006**. 44:1191–1203.
- 25.- Lastra A. L., T.O. Ramírez, L. Salazar, M. Martínez, J.F. Trujillo. Sesquiterpens. Journal of Ethnopharmacology. **2004**; 95:221-227.
- 26.-Zhang S., X. Li, F. Zhang, P. Yang, X. Gao, Q. Song. Plant-derived triterpenoids as potential antineoplastic agents. Bioorganic & Medicinal Chemistry. **2006**;14:3888-3895.
- 27.- Oviedo I., T. Ramírez, M. Martínez. Advances in triterpenoid research. .Journal of Pharmacy and Pharmacology. **2005**; 57:1087-1091.
28. - Parra D. H., A. Ramírez, M. Martínez. Cytotoxic activity and effect on nitric oxide production of tirucallane. Type triterpenes. Bioorg. And Med. Chem. Lett. **2005**; 15: 1005-1008.
29. - Gordon M. D., I. Kingston, J. David. Anticancer agents from natural products. Taylor and Francis CRC. **2005**; 12(6): 98-102.
30. - Martinez M., Cap. 3. Inflammation and Cáncer. Mas O.J., Advances in Cancer Research at UNAM.. 1^a. ed. Manual moderno. México D.F. **2007**. p.52-75.
- 31.- Choi C.Y., H.J. You, H.G. Jeong. Nitric oxide and tumor necrosis factor- α production by oleanolic acid via nuclear factor- κ B activation in macrophages. Biochem. Biophys. Res. Commun. **2001**; 288:49-55.

32. - Wu K.K. Nitric oxide: synthesis and action. Encyclopedia of life. Sciences. **2000**; p. 1-5.
33. - Pollard J.W. Tumor- educated macrophages promote tumor progression and metastasis. Nat. rev. cancer. **2004**; 4:71-78
- 34.- García A., T. Ramírez, H. Parra, G. Velázquez, M. Martínez. Anti- inflammatory activity of coumarins from *Decatropis bicolor* on TPA ear mice model. Plant Med. **2000**; 66:279-281
- 35.- Pae H, H. Oh , Y. Yun , G. Oh , S. Jang , H.K. wang , K wont, H. Lee , H. Chung. Imperatorin a furanocoumarin from *Angelica dahurica* (umbelliferae), induces cyochrome c- dependet apoptosis in human promy elocytic leukaemia, HL-60 cells. Pharmacol. Toxicol. **2002**; 91(40-48).
- 36.- Martínez M, L. De la Cueva, R. Estrada, L. González, T. Ramirez, G. Heinze . Bio-guides isolation of the cytotoxic corytenchine and isocoreximine from roots of *Annona cherimolia*. Phytoterapia. **2005**; en imprenta.
- 37.- Setzer, W., N., M. Setzer. Plant- derived triterpenoids as potential antineoplastic agents. Med. Chem. **2003**; 3:540-556.
38. - Garcia R. Chemical study and evaluation of antineoplastic and antiinflammatory activity of *Hippocratea excelsa*. Tesis. Universidad Nacional Autónoma de Mexico. **2002**. p. 87-90
39. - Dirsch V.M., A. Kiemer, H. Wagner, A.Vollmar. The triterpenoid quinonemethide pristimerin inhibits induction of inducible nitric oxide synthase in murine macrophages. Eur. J. pharmacol. **1997**; 336: 211-217.

- 40.- García A, M. González, H. Parra, M. Matínez. Casimiroin, zapoterin, zapotin and 5,6,2',3',4'- pentamethoxyflavone from *Casimiroa pubescens*. Biochemical systematics and Ecology. **2005**; 33:441-443.
- 41.- García A., M. González, H. Parra, M. Martínez. Pubesamides A, B and C, Three New N-Benzoyltyramide derivatives isolated from *Casimiroa pubescens*. Z. Naturforsch. **2004**; 59b: 245-248.
- 42.-Anwarul, H, R. Atta-ur. Perspectiva paper: Trend in ethnopharmacology. Journal of ethnopharmacology. **2005**; 100: 43-49.
- 43.- Domínguez X.A. Métodos de investigación Fitoquímica. 2^a ed. Limusa. México D.F. **1973**; p. 20-23.
- 44.- Anaya L.A. Ecología química. 1^a ed. Plaza y Valdés. México D.F. **2003**; p: 38-42.
- 45.-.- Duke J.A., M.J. Godwin. Medicinal herbs. 2^a ed. CRC. **2002**; p. 677-678.
- 46.- Patocha J. Biologically active pentacyclic triterpenes and their current medicine signification. Journal of Applied Biomedicine. **2003**; 1:7-12.
- 47- Olivera O.G., H. Soto, M. Martinez , S. Terrazas, A. Solares. Phytochemical study of cuachalalate (*Amphipterygium adstringens* Schiede ex. Schlecht). Journal of ethnopharmacology. **1999**; 68: 109-113.
- 48.-Witkowski A, B. Woynarowska, J. Konopa. Inhibition of the biosynthesis of deoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and protein in HeLa S3 cells by cucurbitacins, glucocorticoid-like cytotoxic triterpenes. Biochem Pharmacol. **1984**; 33: 995-1004.
- 49.- Correa, M.P. Dicionario de Plantas úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas. Revista O Globo Rural. São Paulo Brasil. **1997**; 144 (4): 26

- 50.- Salviano, P.A. Revisão sobre o uso terapêutico da *Luffa operculata* (L) Cogniaux (cabacinha). Rev Bras Méd. **1992**; 49 (9): 672-4.
- 51.-Matos, F.J. Farmacognosia de *Luffa operculata* cogn. Rev Bras Farm. **1979**; 60 (7/9): 69-76.
- 52.-Vasques, C.A., N. Vasques, L.A. Arraes, M. Geller. Revisão farmacognóstica da cabacinha (*Luffa operculata* Cogn.). F. Med. (BR). **1986**; 93 (3):185-7.
- 53.- Lira R. S. Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes. Unidad de Biotecnología y Prototipos UNAM. Fascículo 92.Tlalnepantla México D.F. **2001**; p.1-6
- 54.-Antonio N, J. Espinosa, V. Evangelista, J. Hernández, E. López, Etnobotánica. INI. 1ª. ed. México D.F. **1991**; p. 630-631.
- 55.-Espinosa G. V.,Flora medicinal indígena de México III. Biblioteca de la medicina tradicional mexicana. Tomo III. 1ª. Ed. México D.F. **1994**; p. 1214-1215.
- 56.-Diaz J. A., L.M. Ávila. Sondeo del mercado mundial de Estropajo (*Luffa cylindrica*) Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. **2002**; p. 15-20.
- 57.-Mesbah U.M. Enamul, S. Ranjitk. Bitter principles of *Luffa echinata*. Phytochemistry. **2001**; 35(2):421-423.
- 58.- Miro M. Cucurbitacins and their pharmacological effects. Phytotherapy Research. **2006**; 9(3):159-68.
- 59.-Bombardelli E., P. Morazzoni. *Cucúrbita pepo* L. Fitoterapia. **1997**; 68(4): 291-302.
- 60.-Nobuo K., K. Atsuyo, H. Takashi, S. Setsuko, S. Motoyoshi. Two novel cucurbitacins, Neocucurbitacins A and B, from the Brazilian Folk Medicine . Buchinha

(*Luffa operculata*) and their effect on PEBP2aA and Their effect on PEBP2a and OCIF Gene Expression in a Human Osteoblast-Like Saos-2 Cell Line. Chem. Pharm. Bull. **2001**; 49(10): 1377-1379.

61.- Schenkel E. P., M. Zaninnin, L.A. Mentz, S.A. Bordignon, B. Irgang. Plantas Tóxicas. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3^a. ed. Universidades. **2001**; p. 87-92.

62.-Matos F. J., O.R. Gotlieb. Isocucurbitacina B, constituinte tóxico de *Luffa operculata*. Anais da Academia Brasileira de Ciências. **1967**; 39(2): 245-247.

63.-Liang L. L., C.Y. Lingen. Chemical components from leaves of *Luffa cylindrica* Roem. Yaoxue xuebao journal. **1996**; 31(2): 122-125.

64. - Osaka Y. K. *Luffa* saponins as health additives. Kokai Tokkyo Koho. Journal. **1984**; 4 (7): 4.

65.-Takemoto T. J., Y.K. Osaka. lucynoside saponins from a gourd. Kokai Tokkyo Koho. **1985**; 4(6):9.

66.-Tsunematsu T., S. Arihara, K. Yoshikawa, R. Tanaka. Studies on the constituents of cucurbitaceae plants. On the saponin constituents of *Luffa cylindrica* Roem. Yakugaku Zasshi. **1985**; 106(9): 834-839.

67.-Varshney I.P., M.F. Beg, H.C. Srivastava. Study of aegyptin A and B saponins from *Luffa aegyptiaca* mill seeds. National Academy Science Letters. **1982**; 5(12): 403-405.

68.-Liang L, L. Lu, Y.C. Cai. Structure of lucyoside O from the leaves of *Luffa cylindrica* Roem. Yaoxue xuebao. Journal. **1994**; 29(10): 798- 800.

- 69.-Tang A, X.Chen, X. Liu, C. Zhou, W. Suo, Z. Tang. Studies on chemical constituents in root of *Luffa cilíndrica* Roem. Zhongcaoya journal. **2001**; 32(9):773-775.
- 70.-Asseleih C. L., Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. 3^a. ed. INI. Tomo II. México D.F. **1994**; p. 634- 635.
71. - Khajuria A., A. Gupta, S. Garai. Immunomodulatory effects of two sapogenins 1 and 2 isolated from *Luffa cylindrical* in balb/C mice. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. **2007**; 17(6): 1608- 1612.
- 72.- Kawashima I., M. Fukushima. Extraction of ginsenosides and lucyosides from *Luffa cylindrical* for treatment of skin disorders around the anus in patients with hemorrhoid. Kokai Tokkyo Koho. **1988**; 7 (4):5.
- 73.-Connolly J.D., R.A. Hill. The Triterpenoids. Natural Product Reports. **2005**; 22:287- 503.
- 74.-Cantrell C.L., T. Lu, E.K. Fronczek, N.H. Fisher. Antimycobacterial cycloartanes from *Borrchia frutescens*. Journal of natural products. **1996**; 59:1131- 1136.
75. – Seger, C., S. Sturm, Spectral assignments and reference data. Journal Magn. Reson. Chem. **2005**; 43: 489-491.
- 76.- Metcalf R.L., E.R. Metcalf. Plant Kairomones in insect ecology and control. Chapman & Hall. **1992**; pp.168.
77. - Ameenah G.F., Medicinal plants. Journal molecular aspects of medicine. **2001**; 22:14-25
- 78.-Rehm S., P.R. Enslin, A.D.J. Meeuse. Bitter principles of the cucurbitaceae. The distribution of bitter in this plant family. Journal of science food agricultural. **1977**; 8: 679-686.

79.-Greige G. H., K.R. Abou, M.E. Abou, J. Magdalou, C.H. Ramez, N. Ouaini,. cucurbitacins from *Hecballium elaterium* juice increase the binding of bilirubin and ibuprofen to albumin in human plasma. *Chemico- Biological Interactions*. **2007**; 169(1): 53-62.

80.-Smit H.F., A.J.Van den Berg, B.H. Kroes, C.J. Beukelman, H.C. Quarles van Ufford, H. van Dijk. Inhibition of T-lymphocyte proliferation by cucurbitacins from *Picrorhiza scrophulariae* flora. *J. Nat. Prod.* **2000**; 63:1300–1302.

81.-Duncan K.L, M.D. Duncan, M.C. Alley, E.A. Sausville. Cucurbitacin E-induced disruption of the actin and vimentin cytoskeleton in prostate carcinoma cells. *Biochem Pharmacol.* **1996**; 52:1553–1560.

82.-Peters R. R., T.F. Saleh, M. Lora, C. Patry, A.J. de Brum-Fernandes, M.R. Farias, R.M. Ribeiro-do-Valle. Anti-inflammatory effects of the products from *Wilbrandia ebracteata* on carrageenan-induced pleurisy in mice. *Life Sciences*. **1999**; 64(26): 2429-2437.

83.-Bolleddula J., P. Navindra, G.N. Seeram. Anticancer and antiinflammatory activities of cucurbitacins from *Cucurbita andreana*. *Bioactive Natural Products and Phytoceuticals*. **2002**; 189(1): 11-16.

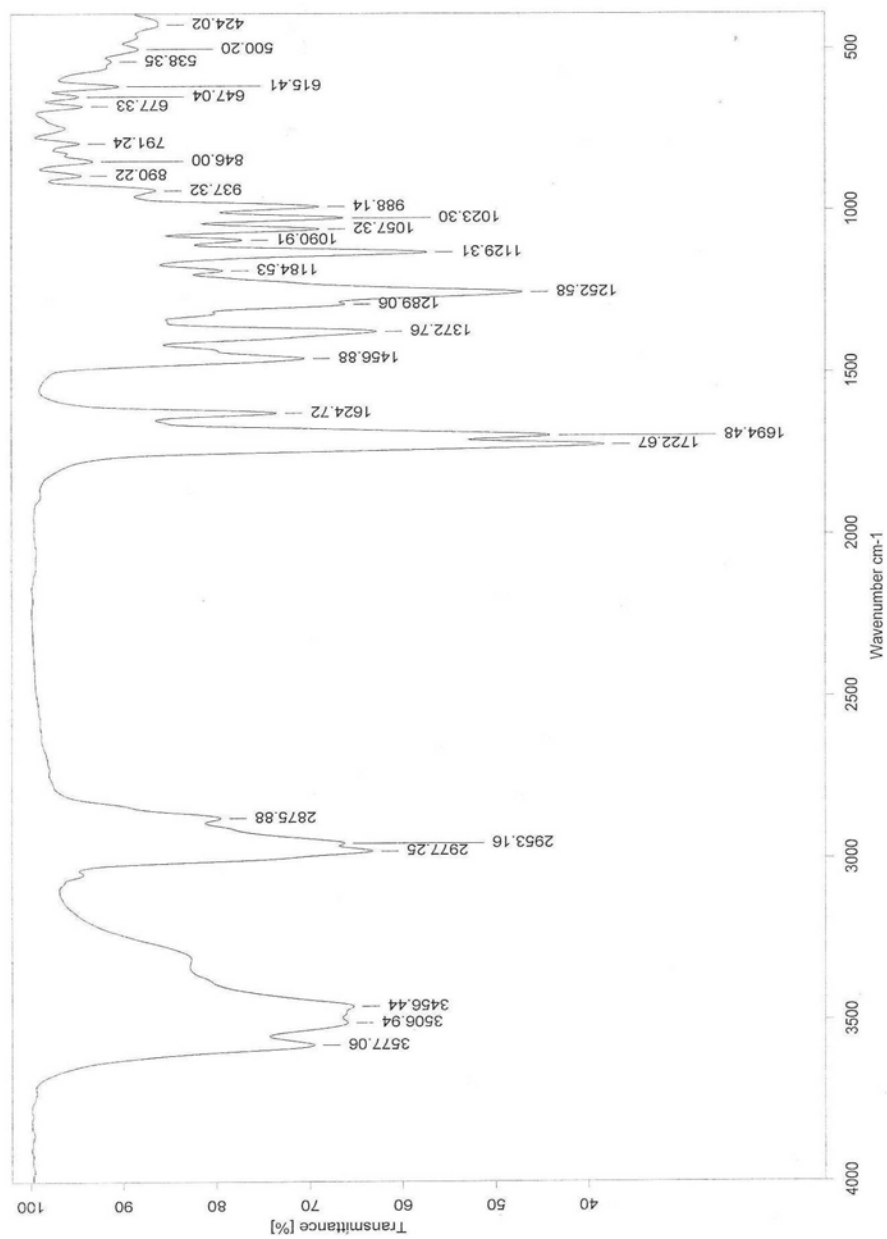
84.-Malgor L.A., M.E. Valsecia,. Prostaglandinas y productos relacionados. En: *farmacología medical*. **2000**; 1(4): 93-11.

85.- Espinos D., A. López, E. Calvo. Bases farmacológicas y tratamiento de la inflamación. Monografía XV, nuevos avances en medicamentos. Avendaño, C.& Tamargo, J. Real academia nacional de farmacia- España. **2004**; p. 237-286.

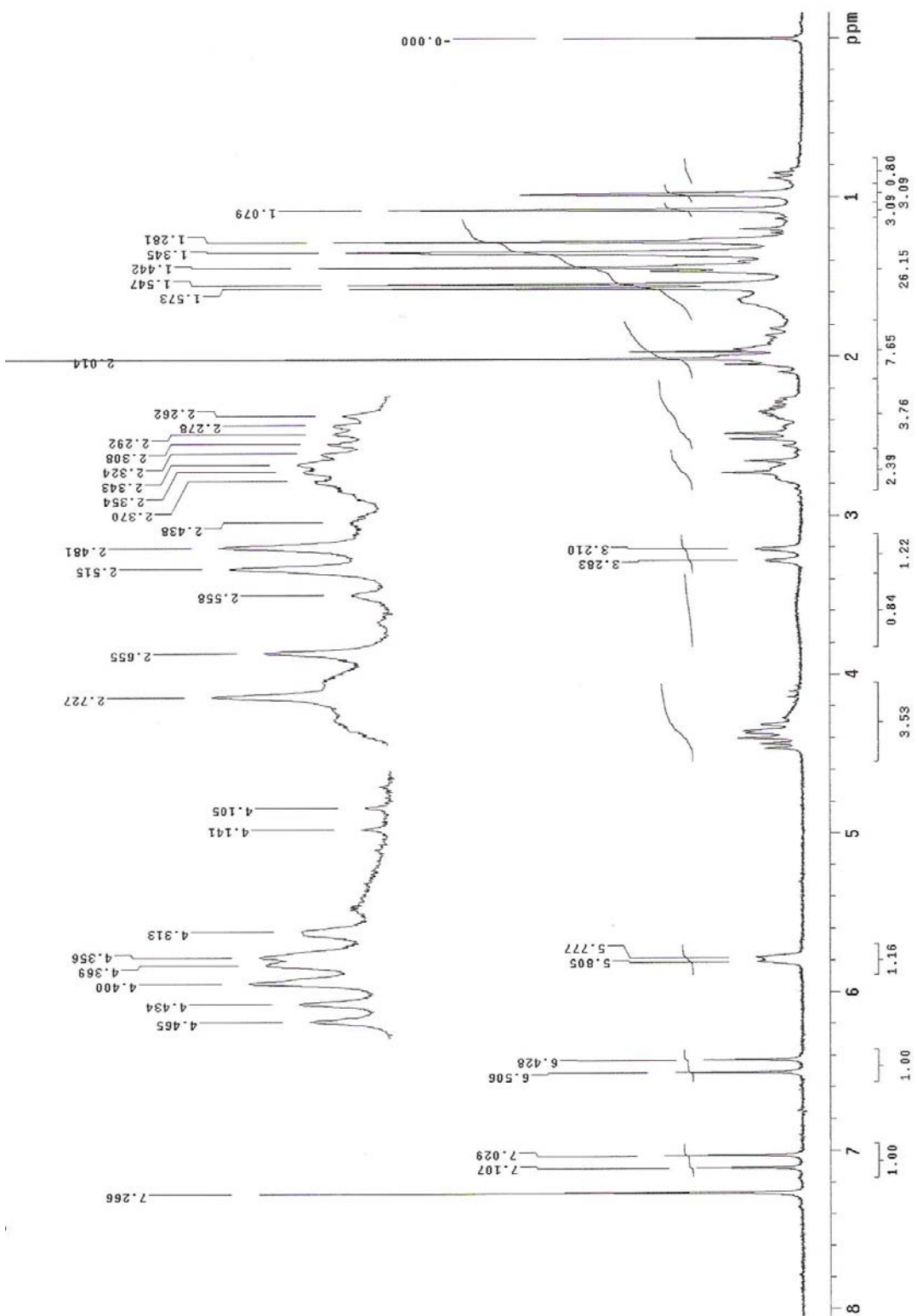
- 86.- Konopa J., A. Matuszkiewicz, M. Hrabowska, K. Onoszka. Cucurbitacins, cytotoxic and antitumor substances from *Bryonia alba*. J. Arzneimittel-Forschung. **1974**; 21(11): 1741-1743.
- 87.- Gomes A., S. Archita, C. Ipshita, A.K. Chakravarty. Viper and cobra venom neutralization by beta-sitosterol and stigmasterol isolated from the root extract of *Pluchea indica* Less.(Asteraceae).Phytomedicine.**2007**;14(9):637-643.
- 88.-Akihisa T.J., Ogihara, J. Kato, K. Yasukawa, M. Ukiya, S. O. Yamanouchi, K. Oishi. Inhibitory effects of triterpenoids and sterols on human immunodeficiency Virus-1 reverse transcriptase. Phytomedicine. **2001**; 36(5): 507-513.
89. - Akihisa, T., K. Yasukawa, M. Yamaura, M. Ukiya., Y. Kimura, N. Shimizu, K. Arai. Triterpene Alcohols and Sterol Ferulates from Rice Bran and Their Anti-inflammatory Effects, J. Agric. Food Chem. **2000**; 48: 2313–2319.
- 90.-Akihisa T., Y. Kimura. Sterols and Triterpenes of the Family Cucurbitaceae. Phytochem. **1997**; 1: 339–348.

18.- ANEXO

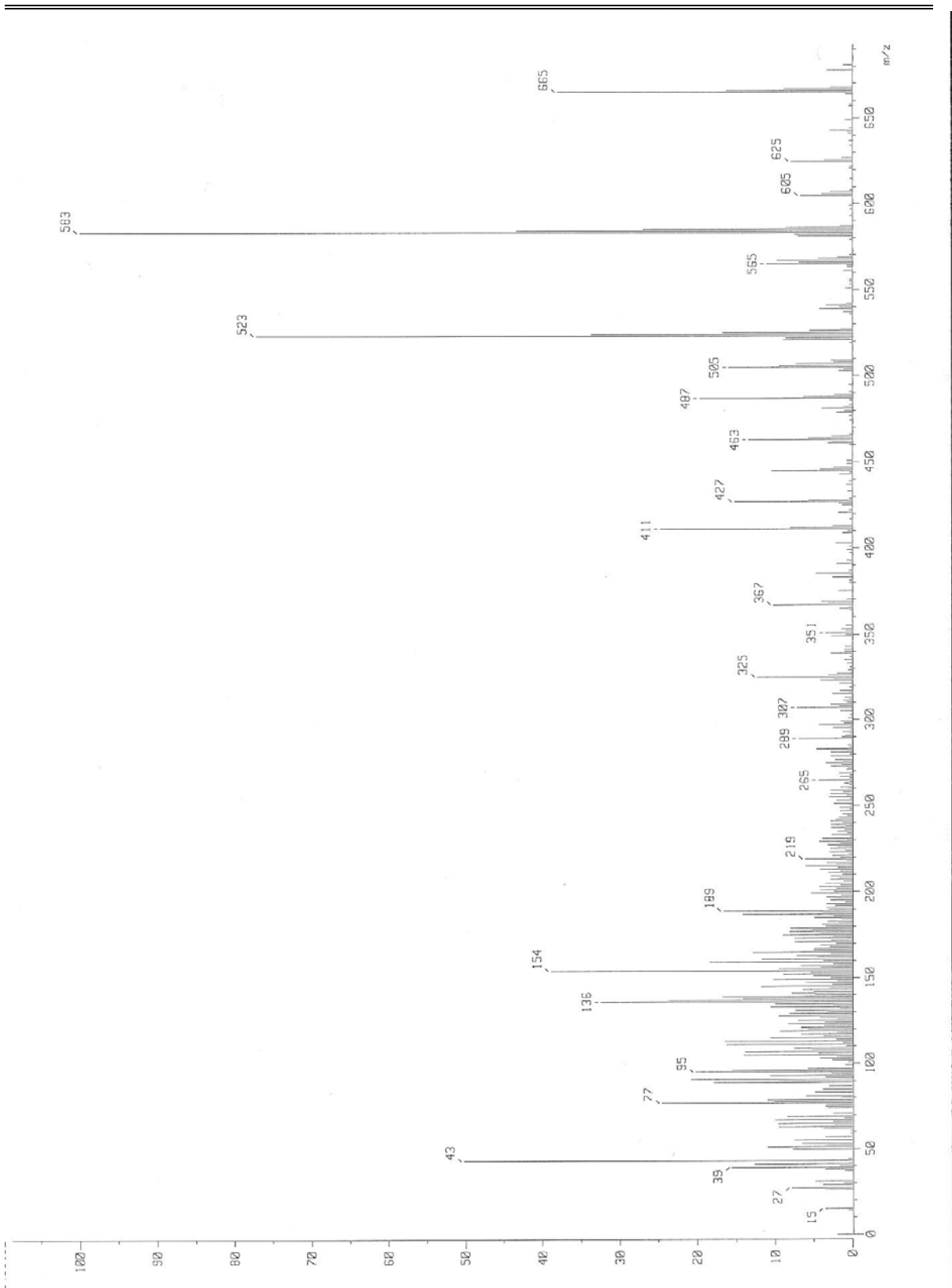
Espectros IR, RMN H^1 , RMN C^{13} , EM y COSY.



1.- IR de cucurbitacina B sin acetilar.



2.- RMN H¹ de cucurbitacina B sin acetilar.



3.- Espectro de masas de cucurbitacina B acetilado.

