



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

---

FACULTAD DE QUÍMICA.

**ENSAYO DE LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE  
PLANTAS MEXICANAS SOBRE LÍNEAS  
CELULARES DE CARCINOMA NASOFARÍNGEO,  
LARÍNGEO Y CERVICOUTERINO**

*TESIS*

*QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE*

***QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA.***

*PRESENTA*

Mónica Cecilia Rodríguez Rivera



MÉXICO, D.F.

2008



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

***JURADO ASIGNADO:***

<b>Presidente</b>	Dra. Rachel Mata Essayag
<b>Vocal</b>	Dr. Rogelio Gregorio Pereda Miranda
<b>Secretario</b>	Dra. Mabel Clara Fragoso Serrano
<b>Primer suplente</b>	Dra. María Eva González Trujano
<b>Segundo suplente</b>	Dr. José Fausto Rivero Cruz

*Sitio donde se desarrolló el tema:*

*Departamento de Farmacia, Laboratorio 123.*

*Facultad de Química.*

*Universidad Nacional Autónoma de México.*

Asesor:

---

Dra. Mabel Clara Fragoso Serrano

Sustentante:

---

Mónica Cecilia Rodríguez Rivera

## Agradecimientos:

- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada a través del proyecto 45861-Q.
- El desarrollo del presente trabajo se llevó a cabo con apoyo de los proyectos CONACYT 45861-Q y DGAPA IN-208307-3.
- A la Dra. Mabel Clara Fragoso Serrano por su apoyo durante todo este tiempo, por su comprensión, por su enseñanza y por permitirme desarrollar este proyecto, indudablemente sin su apoyo no se hubiera podido realizar. Eres un gran ser humano y un gran ejemplo.
- Al Dr. Rogelio Pereda por darme la oportunidad de realizar este proyecto que tiene un significado especial para mí ya que siempre quise trabajar con cáncer y esto me enorgullece mucho. Admiro mucho su trabajo y agradezco la oportunidad que me brindó.
- A la Dra. Nadia Jacobo por permitirme trabajar con ella, por su apoyo y su escucha, muchas gracias por todo lo que me enseñaste, eres alguien a quien aprecio mucho.
- A todas las personas que forman parte del Laboratorio 123 del conjunto E, Facultad de Química. Muchas Gracias a todos mis compañeros.
- A mi escuela: la U.N.A.M. y a la Facultad de Química por formar profesionales que hagan que nuestro país sea mejor cada día.
- A la M en C. Imelda Velázquez Montes por su apoyo.

## **Agradecimientos Personales:**

**A Dios** por darme la vida, las fuerzas y la oportunidad de lograr concluir mis estudios, sentir la vocación que dirige mi vida, por permitirme desarrollarme profesionalmente.

A mi madre **Reyna Rivera Sánchez** por ser la mejor mamá del mundo, ya que su ejemplo en vida siempre me guiará. Gracias por tu amor nany.

A mi padre Marco Vinicio Rodríguez Guerrero por apoyarme en todo lo que he hecho en mi vida.

A mi hermano Rodrigo Rodríguez Rivera por ser mi hermano pequeño. A peny.

A mis abuelos maternos José Rivera Arreola y Susana Sánchez Ramos por su apoyo incondicional durante toda mi vida.

A mi familia (abuelos, tíos, primos) por estar ahí siempre. A mi familia chiquita: Goumarita, Rita, Rosy (que siempre ha creído) e Iki por ser la lata más genial y mi familia más incondicional.

A Francisco Roca Ramos por su apoyo y por ser un gran ser humano y compañero de vida.

A mi sister Gellely Berrón, por ser siempre mi sister.

A Margarita por su apoyo siempre.

A todas las personas que sé que me aprecian y que sus nombres no se mencionan aquí, a todos mis compañeros de trabajo, mis jefes y jefas, a los doctores, a los del laboratorio, a mis amigas incondicionales, a todas las personas con las que he compartido sonrisas y que han sido mis amigos y amigas a lo largo de los caminos.

A la vida que viene por delante....

---

# ÍNDICE

ÍNDICE .....	I
INTRODUCCIÓN .....	1
1. ANTECEDENTES .....	3
1.1. <i>Alnus acuminata</i> Kuntz (Betulaceae) .....	3
1.1.1. Sinónimos .....	3
1.1.2. Características botánicas .....	3
1.1.3. Distribución .....	4
1.1.4. Usos .....	4
1.1.5. Moléculas bioactivas y antecedentes farmacológicos .....	5
1.2. <i>Argemone ochroleuca</i> Sweet (Papaveraceae) .....	7
1.2.1. Sinónimo .....	7
1.2.2. Nombres comunes .....	8
1.2.3. Características botánicas .....	8
1.2.4. Distribución .....	9
1.2.5. Usos .....	9
1.2.6. Antecedentes farmacológicos .....	11
1.2.7. Compuestos aislados .....	11
1.2.8. Toxicidad .....	11
1.3. <i>Cirsium ehrberengii</i> Sch. Bip. (Asteraceae) .....	13
1.3.1. Sinónimo .....	13
1.3.2. Nombres comunes .....	13
1.3.3. Características botánicas .....	14
1.3.4. Distribución .....	14

---

1.3.5. Usos .....	15
1.3.6. Antecedentes farmacológicos.....	15
1.3.7. Compuestos activos .....	16
1.4. <i>Heliopsis longipes</i> S.F. Blake (Asteraceae) .....	17
1.4.1. Sinónimo .....	17
1.4.2. Nombre común .....	17
1.4.3. Características botánicas .....	17
1.4.4. Distribución .....	19
1.4.5. Usos .....	19
1.4.6. Antecedentes farmacológicos.....	19
1.4.7. Compuestos activos .....	21
1.5. <i>Iresine difusa</i> H. B. Willd (Amaranthaceae).....	22
1.5.1. Sinónimos .....	22
1.5.2. Nombre común .....	22
1.5.3. Características botánicas .....	23
1.5.4. Distribución .....	23
1.5.5. Usos .....	23
1.5.6. Antecedentes farmacológicos.....	24
1.5.7. Moléculas bioactivas.....	24
1.6. <i>Loeselia mexicana</i> (Lam) (Polemoniaceae) .....	26
1.6.1. Sinónimo .....	26
1.6.2. Nombre común .....	26
1.6.3. Características botánicas .....	26
1.6.4. Distribución .....	27
1.6.5. Usos .....	27

---

1.6.6. Antecedentes farmacológicos.....	27
1.6.7. Composición química .....	28
1.6.8. Toxicidad .....	29
1.7. <i>Ternstroemia lineata</i> (DC) (Theaceae).....	29
1.7.1. Sinónimo .....	29
1.7.2. Nombres comunes.....	29
1.7.3. Características botánicas .....	29
1.7.4. Distribución .....	30
1.7.5. Usos .....	30
1.7.6. Antecedentes farmacológicos.....	30
1.7.7. Principios activos .....	31
1.7.8. Toxicidad .....	32
2. JUSTIFICACIÓN EXPERIMENTAL.....	33
3. OBJETIVOS .....	34
3.1. Objetivo general .....	34
3.2. Objetivos específicos .....	34
4. HIPÓTESIS .....	35
5. DESARROLLO EXPERIMENTAL .....	36
5.1. Material vegetal.....	37
5.2. Preparación de extractos .....	37
5.2.1. Extracto total.....	37
5.2.2. Extractos decolorados .....	37
5.3. Preparación de controles .....	37
5.5. Preparación de muestras .....	37
5.6. Ensayo de citotoxicidad.....	38



---

5.7. Determinación de la $CI_{50}$ .....	39
5.8. Criterios de actividad .....	39
6. RESULTADOS .....	40
6.1 Aspecto físico de las plantas colectadas .....	40
6.2. Selección de células para el bioensayo .....	43
6.3. Datos brutos y consideraciones matemáticas del modelo .....	44
6.4. Valores de $CI_{50}$ de los diferentes extractos. ....	46
7. ANÁLISIS DE RESULTADOS. ....	49
8. CONCLUSIONES.....	56
9. PERSPECTIVAS.....	57
10. BIBLIOGRAFIA .....	58

### Índice de figuras

		Pág.
<b>Figura 1.</b>	Árbol, corteza, hojas y frutos de <i>Alnus acuminata</i> .....	3
<b>Figura 2.</b>	Estructura básica de los triterpenoides de la corteza de las betuláceas...	6
<b>Figura 3.</b>	Diarilheptanoides aislados de especies de <i>Alnus</i> .....	6
<b>Figura 4.</b>	<i>Argemone ochroleuca</i> .....	8
<b>Figura 5.</b>	Isoquercitrina.....	10
<b>Figura 6.</b>	Alcaloides tóxicos aislados de <i>Argemone</i> .....	13
<b>Figura 7.</b>	<i>Cirsium ehrberengii</i> Sch. Bip.....	14
<b>Figura 8.</b>	Panaxinol.....	16
<b>Figura 9.</b>	5,7-Dihidroxi-6,4'-dimetoxiflavona.....	17
<b>Figura 10.</b>	24-hidroperoxicicloart-25-en-3 $\beta$ -ol.....	17
<b>Figura 11.</b>	Hojas de algunas especies del género <i>Heliopsis</i> .....	18
<b>Figura 12.</b>	<i>Heliopsis longipes</i> .....	18

---

<b>Figura 13.</b>	Afinina (N-isobutil 2E, 6Z, 8E decatrienamida).....	20
<b>Figura 14.</b>	Lactonas sesquiterpénicas aisladas de la familia Asteraceae.....	22
<b>Figura 15.</b>	<i>Iresine difusa</i> .....	23
<b>Figura 16.</b>	Compuestos aislados de <i>Iresine difussa</i> .....	25
<b>Figura 17</b>	Alcaloides presentes en <i>Aerva lanata</i> .....	25
<b>Figura 18.</b>	CoPS3.....	25
<b>Figura 19.</b>	<i>Loeselia mexicana</i> .....	26
<b>Figura 20.</b>	Diacetato triterpénico aislado de <i>Loeselia mexicana</i> .....	28
<b>Figura 21.</b>	<i>Ternstroemia lineada</i> .....	29
<b>Figura 22.</b>	Epigalocatequina-3-galato.....	32

---

**Índice de tablas**

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> Especies estudiadas con potencial citotóxico seleccionadas por su uso en la medicina tradicional.....	36
<b>Tabla 2.</b> Diluciones de los controles positivos.....	37
<b>Tabla 3.</b> Diluciones de los extractos.....	38
<b>Tabla 4.</b> Valores de D.O. registrados para la línea celular HeLa.....	45
<b>Tabla 5.</b> Valores corregidos de D.O. para el blanco, colchicina y extracto 34676.....	45
<b>Tabla 6.</b> Porcentaje de crecimiento de la línea celular HeLa al ser sometida a diferentes concentraciones de colchicina y extracto 34676 sin decolorar.....	46
<b>Tabla 7.</b> Valores de $CI_{50}$ para la línea celular HeLa.....	46
<b>Tabla 8.</b> Valores de citotoxicidad ( $CI_{50}$ , $\mu\text{g/mL}$ ) de los extractos sin decolorar.....	47
<b>Tabla 9.</b> Valores de citotoxicidad ( $CI_{50}$ , $\mu\text{g/mL}$ ) de los extractos decolorados.....	48

## INTRODUCCIÓN

A lo largo del proceso de evolución, y de acuerdo a las necesidades primero de sobrevivencia y después de competencia, las plantas han aprovechado su metabolismo secundario para la elaboración de un gran conjunto de moléculas con grupos funcionales tan diversos, pero tan específicos en tareas complementarias a su subsistencia, como:

- Defensa contra parásito
- Toxinas contra depredadores
- Toxinas contra competidores
- Moléculas de adaptación a los cambios ambientales
- Mutualismo

Así podemos observar el caso de algunas sustancias alcaloideas, como la cafeína, entre otras, que aturden la locomoción de los insectos o que ciertas bacterias producen el característico olor a tierra mojada, que sirve como guía olfativa a algunos mamíferos (*e.g.* el elefante)

El ser humano mediante la observación de las estrategias de sobrevivencia que utilizan otras especies; imitando o dirigiéndolas en la solución de sus propios problemas ha desarrollado tecnologías que mejoran su calidad de vida. En el caso particular de las plantas, ha encontrado la posibilidad de aprovecharlas no solamente para mejorar su calidad de vida; sino que también contribuyen con la obtención de principios activos para el tratamiento de diversas enfermedades tales como el cáncer por el cual se tiene particular interés en la presente investigación.

Aprovechando la gran riqueza botánica de nuestro país, se realizó un diseño experimental con el objetivo de identificar si los extractos de algunas plantas mexicanas (endémicas) de las cuales se conoce por relatos etnomédicos, relaciones filogenéticas, y/o criterios ecológicos que posiblemente posean actividad citotóxica sobre líneas celulares derivadas de tumores humanos.

Estas líneas contemplan carcinomas nasofaríngeo (KB), cervicouterino (Hela) y laríngeo (Hep-2).

Los resultados obtenidos fueron clasificados en orden de su actividad citotóxica, considerando los criterios de actividad biológica reportados en la literatura (Chai y Pezzuto, 1997), donde se consideran activos los extractos con una  $CI_{50}$  menor a 20  $\mu\text{g/mL}$  y por comparación con la actividad de controles positivos (colchicina y vinblastina). Los resultados nos muestran la necesidad de continuar con líneas de investigación que estudien los principios activos de las plantas que mostraron actividad significativa. Además de la necesidad de la protección y aprovechamiento de nuestro patrimonio ecológico debido a su potencial uso terapéutico y económico que es capaz de brindarnos.

En el presente estudio, los extractos de plantas que mostraron resultados significativos correspondieron a las siguientes especies, por lo cual, en los antecedentes se presentan solo las monografías de estas especies.

*Alnus acuminata*

*Argemone ochroleuca*

*Cirsium ehrberengii*

*Heliopsis longipides*

*Iresine diffuse*

*Loeselia mexicana*

*Ternstroemia lineata*

Todas estas especies se utilizan en la medicina tradicional mexicana como tónicos para obtener un bienestar generalizado del organismo y en forma de complementos alimenticios.

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1. *Alnus acuminata* Kuntz (Betulaceae)

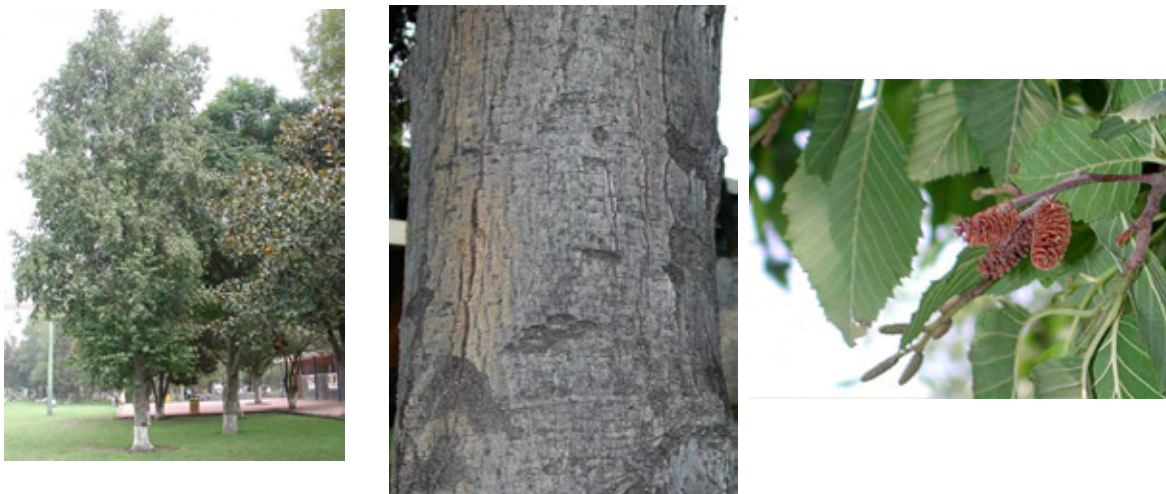
#### 1.1.1. Sinónimos

*Betula arguta*; *Alnus arguta*; *A. ferruginea*; *A. jorullensi*; *A. pringlei* ; *A. mirbelli*; *A. spachie* (Cordero y Boshier, 2003) .

#### 1.1.2. Características botánicas

Árbol caducifolio monaico, su copa es angosta y piramidal (en plantaciones), en bosquetes sucesionales toma formas irregulares. De hojas alternadas, ovaladas y dentadas. Su corteza es lisa o ligeramente rugosa, escamosa en individuos viejos, de gris a plateada. Raíces radiales poco profundas, amplias y extendidas, con nódulos de nitrógenos.

Flores masculinas en amentos cilíndricos colgantes, generalmente en agrupaciones de 3; las femeninas en racimos terminales con numerosas escamas leñosas, de 3 a 4 en racimos (Figura 1)



**Figura 1.** Árbol, corteza, hojas y frutos de *Alnus acuminata* (www.Arboles.org).

### 1.1.3. Distribución

El género *Alnus* se puede encontrar en laderas montañosas muy inclinadas con condiciones secas. Prospera en las riberas de los ríos y en pendientes húmedas. Se desarrolla en áreas de nubosidad, con neblina frecuente. Su rango de temperatura va de 4 a 27 °C y puede soportar temperaturas que bajan temporalmente a 0 °C ([www.conabio.org](http://www.conabio.org)).

Dicha especie es nativa de México y Centroamérica; aunque numerosas especies de *Alnus* se localizan en Norteamérica, y algunas zonas de Sudamérica (Argentina y los Andes, Perú). Se ha introducido con éxito en el sur de Chile y en Nueva Zelanda ([www.mailxmail.com](http://www.mailxmail.com)).

Este género contiene 25 especies, de las cuales se encuentran en México sólo tres o quizás cinco. La clasificación de las especies mexicanas es un tanto confusa. Rzedowski (1986), describe al género *Alnus* con seis especies (*A. acuminata*, *A. arguta*, *A. alabrata*, *A. jorullensis*, *A. firmifolia* y *A. lutea*). Furlow (1976) da otra clasificación: *A. acuminata subesp. arguta*, *A. acuminata subesp. glabrata*, *A. jorullensis subsp. jorullensis* y *A. jorullensis subsp. lutea*. El mismo Furlow sugiere la necesidad de profundizar más en la investigación taxonómica del género.

### 1.1.4. Usos

*A. acuminata* es valioso por su madera, se utiliza para la protección de las cuencas y la mejora del suelo. También, es muy valioso para el ecosistema, como es un árbol fijador de nitrógeno, enriquece la calidad del suelo conforme crece. Es una especie pionera de rápido crecimiento que regenera naturalmente las zonas abiertas afectadas ([www.cloudbridge.com](http://www.cloudbridge.com))

Es una planta con numerosos usos medicinales, entre ellos se puede mencionar antirreumático, antiinflamatorio y astringente (Bernal y Correa, 1989). *A. japónica* ha sido usada por coreanos en la medicina tradicional, para hepatitis y cáncer (Kim *et al.*, 2004). Los nativos americanos y siberianos utilizan en la medicina tradicional la corteza de las betuláceas, *B. papyfera* y *B. pendula* (Krasutsky, 2006).



### **1.1.5. Moléculas bioactivas y antecedentes farmacológicos**

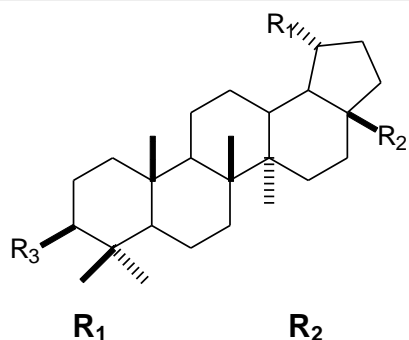
El contenido de las moléculas bioactivas importantes de esta familia puede variar entre especies, como también depende de la edad del árbol (variabilidad ontogénica) y de las condiciones climatológicas del mismo (variabilidad geográfica).

#### **1.1.5.1. Triterpenoides**

Los triterpenoides son los productos del metabolismo secundario de las plantas, donde se piensa que su función es la defensa contra patógenos (Urech *et al.*, 2005; Zinoveva *et al.*, 2001).

La betulina (figura 2) es uno de los más antiguos triterpenoides aislados de la corteza de las betuláceas, la cual presenta una moderada actividad anticancerígena, anti-HIV, antifúngica, antibacteriana y antiviral. La betulina y los extractos de la corteza de las betuláceas ya son usados como complemento alimenticio (Betual), cuya función es proteger al hígado, prevenir y tratar la intoxicación alcohólica aguda; y como aditivo de bebidas alcohólicas (Russ Pat, 2002). Este efecto hepatoprotectivo puede deberse al enlace 3, 28-esteres (Flekhter *et al.*, 2000).

Además, los diseñadores de productos cosméticos piensan que el ácido betulínico (50-500 mg/g) previene y ayuda al tratamiento del cáncer de piel, inducido por rayos ultravioletas (Ger Pat, 1997), reduce signos de celulitis y estimula síntesis de colágeno para productos del cuidado de la piel, previniendo los signos de la edad causados por la exposición a la luz solar (US Pat, 1996).

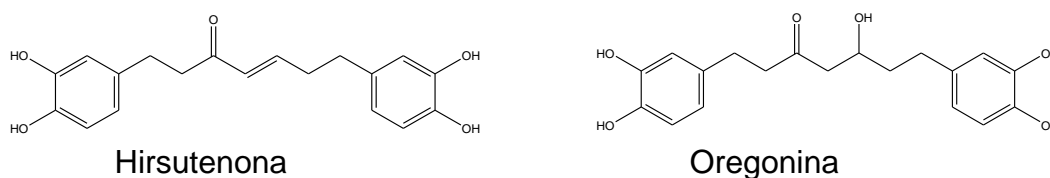


	$R_1$	$R_2$	$R_3$
<b>Betulina</b>	$\text{CH}_3\text{CH}=\text{CH}_2$	$\text{CH}_2\text{OH}$	$\text{OH}$
<b>Acido betulínico</b>	$\text{CH}_3\text{CH}=\text{CH}_2$	$\text{COOH}$	$\text{OH}$
<b>3-cafeilbetulina</b>	$\text{CH}_3\text{CH}=\text{CH}_2$	$\text{CH}_2\text{OH}$	$(\text{OH})_2\text{C}_6\text{H}_3\text{CH}-\text{CHCOO}$
<b>3-O-Glutarildihidrobetulina</b>		$\text{CH}_2\text{OH}$	$\text{HOOC}(\text{CH}_2)_3\text{COO}$

**Figura 2.** Estructura básica de los triterpenoides de la corteza de las betuláceas (Krasutsky, 2006).

### 1.1.5.2. Diarilheptanoides

Los diarilheptanoides son compuestos fenólicos relacionados a la curcumina, que también es un diarilheptanoide y que da pigmentación al jengibre, a los cuales se les ha encontrado capacidad antioxidante, antiinflamatoria y anticancerígena. En la figura 3 se ilustran la hirsutenona y la oregonina, compuestos bioactivos aislados de *A. hirsuta*.



**Figura 3.** Diarilheptanoides aislados de especies de *Alnus*.

Se han encontrado seis diarilheptanoides de la corteza de *A. hirsuta* que muestran actividad inhibitoria sobre el factor nuclear kapa B (NF-κB), disminuyendo la producción de moléculas proinflamatorias, oxido nítrico (NO) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) (Jin *et al.* 2007). Los diarilheptanoides aislados de *A. japonica*, también muestran inhibición de la síntesis de NO y además de prostaglandinas, al inhibir la COX-2, en células *in vitro* (Kim *et al.*, 2005).

La oregonina y la hirsutenona, aisladas de *A. japonica*, poseen actividad antioxidante sobre lipoproteínas de baja densidad (LDL's) (Lee *et al.*, 2005; Kuroyanagi *et al.* 2005). La garugambolina-3 y la acrogenina L, obtenidas del extracto metanólico de la misma planta, exhiben el mismo efecto antioxidante sobre las LDL's. Esta actividad antioxidante mostró ser cinco veces mayor que el probucol, en una concentración de 10 μM no tuvo efecto sobre la antiarterogénesis en el ratón deficiente del receptor LDL (Kang *et al.*, 2006). En otro estudio la actividad antioxidante de la misma planta mostró ser hepatoprotector en contra de acetaminofen (APP) que induce citotoxicidad en un cultivo de hepatocitos de rata *in vitro* (Kim *et al.*, 2004).

La oregonina aislada de la especie *A. formosana* reduce la producción de NO, la proteína inductora de la oxido nítrico sintetasa (iNOS) además de la unión del NF-κB a su zona promotora en macrófagos y microglia (Lee, 2005). La actividad inhibitoria de la síntesis de prostaglandina E2 y NO también se encontró en 9-diarilheptanoides aislados de la corteza de *A. japonica* (Kim, 2005).

La δ-amirona y la 4',7-dimetoxipigenina, aisladas de *A. acuminata*, han mostrado actividad antiinflamatoria al ser probadas en la pata de ratas a las que se les había administrado carrigenina al 1%, empleando como control positivo la indometacina (Salama y Alvedaño, 2005).

## **1.2. *Argemone ochroleuca* Sweet (Papaveraceae)**

### **1.2.1. Sinónimo**

*Argemone mexicana* L.

### 1.2.2. Nombres comunes

Cardo santo (Baja California), chilacote (Estado de México, Hidalgo), kix-kankol (Yucatán), tlamexcaltzin (Veracruz), chicalotl, chichilotl o xicolotl (lengua náhuatl), k'iix-k'anlol o k'iix-saklol (lengua maya), guechinichi (lengua zapoteca), hazte (lengua pureé echa), tzolich (lengua huasteca, San Luís Potosí) (Lara y Márquez, 1996).

Con el nombre de cardo santo es conocida y utilizada también otra especie vegetal de la familia de las compuestas, este tipo de confusiones entre las plantas son frecuentes cuando se trata de nombres comunes, lo cual nos demuestra la importancia del nombre científico para la identificación de las materias primas que constituyen complejos de plantas medicinales sumamente utilizadas en México (Pereda-Miranda *et al.*, 2006).

### 1.2.3. Características botánicas

Planta herbácea anual o perenne de vida corta, glauca, con látex amarillo o anaranjado, de 30 cm a 1.5 m de alto, provista de espinas rectas, blanquecinas, ampliamente espaciadas, de longitudes diversas (Calderón de Rzedowski, 1991), de pétalos amarillos a blancos generalmente de color crema, abobados, obcuneados a elípticos; estambres numerosos con filamentos y anteras amarillas (figura 4).

El fruto es una cápsula 3 a 6 valvadas, oblongas o fusiformes, de 2 a 5 cm de largo (inclusive estilo y estigma) por 1 a 1.8 cm de ancho (sin incluir las espinas), con espinas más bien esparcidas, extendidas, blanquecinas, gruesas, de 6 a 12 mm de largo, a veces mezcladas con otras más pequeñas; semillas globoso-apiculadas, de 1.5 a 2 mm de diámetro ([www.conabio.gob.mx](http://www.conabio.gob.mx)).

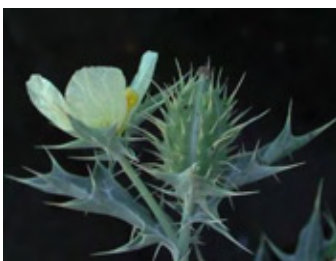


Figura 4. *Argemone ochroleuca* ([www.conabio.org.mx](http://www.conabio.org.mx)).

#### 1.2.4. Distribución

Planta mexicana, ampliamente distribuida sobre todo hacia la Altiplanicie (Calderón de Rzedowski, 1991).

Es común encontrarla en cultivos, pastizales y a las orillas de las carreteras. También se le haya en selvas caducifolias y en zonas áridas. Generalmente, en suelos fértiles y soleados. Se distribuye del sur de EU. a México. Naturalizada en La India, Java, Egipto, Ghana, Nigeria, Australia. Se cultiva en EU. y Europa por sus flores vistosas como una planta ornamental.

#### 1.2.5. Usos

El nombre asignado al género se deriva del griego y alude a su reputación como remedio para los ojos. El pueblo de Xoxocotla ha usado sus flores para lavar los ojos irritados. La leche se emplea para tratar la “nube de ojos”. Se corta una ramita y se aplica la leche ya sea en el párpado o dentro del ojo, durante las noches, en los días que se tenga el espesor. El látex, la flor y la raíz se emplean en las infecciones de los ojos, en la carnosidad, en las cataratas y en la sarna (Rojas, 1998).

En Paraguay, los curanderos preparan emulsiones, pisando las cápsulas frescas con las semillas, las diluyen y las suministran con resultados favorables en los cólicos. El efecto que producen es purgante y sedativo al mismo tiempo. El célebre *thistle oil* de las Antillas Inglesas se prepara haciendo hervir las semillas machacadas de la *Argemone*. Se usa también este aceite contra los cólicos y se dice que alivia y desvanece el dolor al poco rato de haberse tomado produciendo un efecto hipnótico notable; el jugo secado al sol da una masa sólida amarillo oscuro, semejante al opio. Sus virtudes calmantes la colocan entre el opio y el lactucario (Hieronymus, 1882; Charbonnier, 1968).

#### 1.2.6. Antecedentes farmacológicos

Los principales estudios de actividad biológica del género *Argemone*, se han realizado utilizando constituyentes individuales o extractos de la planta completa o de algunas de sus partes. Dichas actividades se indican a continuación.

### 1.2.6.1. Propiedades antiasmáticas

La isoquercitrina (figura 5) aislada de *A. platyceras* se usó en el tratamiento del asma en cobayos, donde encontraron una reducción de las contracciones de las vías respiratorias superiores, inducidas por los leucotrienos y el carbacol (Fernández *et al.*, 2005).

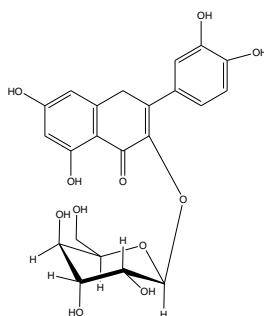


Figura 5. Isoquercitrina.

### 1.2.6.2. Actividad antimalaria

El extracto metanólico de las hojas de *A. mexicana* reduce el crecimiento de *Plasmodium berghei* en ratones albinos infectados, dicha reducción fue del 47 %, 32 % y 39 %, en las dosis de 250, 500 y 1000 mg/kg, respectivamente (Carrillo-Rosario y Díaz de Ramírez, 2005).

En Malí, se llevó a cabo un ensayo clínico usando un remedio hecho a partir de *A. mexicana* (decocción), se usaron tres grupos con diferentes regímenes de dosificación del remedio. Todos los voluntarios del grupo de control presentaban síntomas de malaria y parasitemia ocasionado por *Plasmodium falciparum*, después de 14 días de tratamiento, se observó una disminución del número de parásitos (Willcox *et al.*, 2007).

### 1.2.6.3. Actividad antibacteriana

Se observó actividad antibacteriana de los extractos crudos de hojas y semillas (frío y caliente acuosos y metanólico) sobre bacterias patógenas (gram positivas: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, y gram negativos: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aureuginosa*) (Bhattacharjee *et al.*, 2006).

#### **1.2.6.4. Actividad sobre músculo liso**

El extracto metanólico de *A. mexicana* muestra actividad relajante del músculo liso y los responsables de tal efecto son los alcaloides isoquinolínicos (Bose, 1963; Capasso *et al.*, 2006).

#### **1.2.7. Compuestos aislados**

Los principales compuestos aislados de la planta que pueden tener o no actividad biológica incluyen aminoácidos, alcaloides, flavonoides y ácidos grasos, algunos ejemplos se enumeran a continuación (Lara y Márquez, 1996).

- Argemonina (Chakrabarti, 1954)
- Sanguinarina y dihidrosanguinarina, en el aceite de las semillas (Sarkar 1948).
- Protopina, alocriptopina, berberina, sanguinarina y queleritrina (Bandoni *et al.*, 1975).
- Berberina, protopina, alocriptopina, muramina, sanguinarina, queleritrina, dihidroqueleritrina (Israilov, 1987).
- Berberina, sanguinarina, coptisina, queleritrina, dihidrosanguinarina, dihidroqueleritrina, norsanguinarina, criptopina, queilantifolina, escoulerina, hidroximetilestilopina (Haisova y Salvik, 1973).

#### **1.2.8. Toxicidad**

El parecido de *Argemone* con la amapola no es accidental; ambas especies pertenecen a la familia de las Papaveráceas, famosa por su capacidad de producir una gran variedad de alcaloides. De hecho, tanto la amapola como *Argemone* producen alcaloides con características compartidas debido a que, en ambas plantas, éstos se forman a partir de un compuesto común; el aminoácido tirosina.

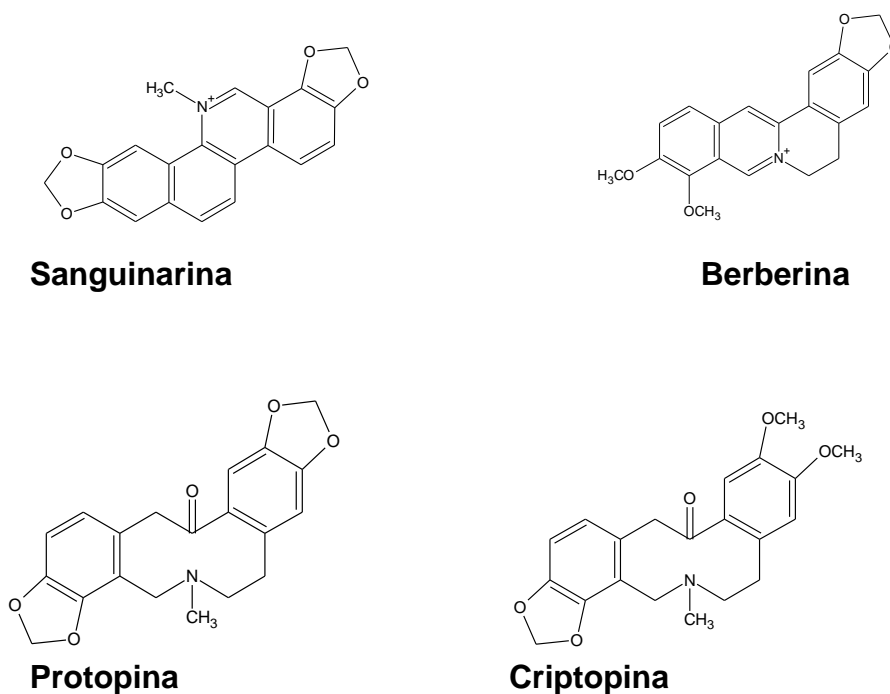
Uno de estos alcaloides es la sanguinarina (figura 6) que es el principal componente del aceite de *A. mexicana*, causa glaucoma en animales de laboratorio y los animales rechazan comerla ([www.herbotecnia.com.ar](http://www.herbotecnia.com.ar)), también ha mostrado actividad tóxica en los seres humanos, cuando se ha ingerido en aceite de mostaza adulterado. Lo cual condujo a un estado clínico conocido como hidropesía epidémica caracterizada por vomito, diarrea, edema generalizado, glaucoma y en casos graves paro cardiaco, las manifestaciones clínicas se presentan por un incremento en la permeabilidad vascular en arteriolas y capilares. Por otro lado, la sanguinarina se intercala en el DNA de células de la sangre, medula espinal e hígado, además inactiva la enzima citocromo P450 conduciendo a un incremento de las especies reactivas derivadas del oxígeno, induciendo estrés oxidativo y daño potencial del DNA de las células antes mencionadas (Sanghvi, 1960; Verma *et al.*, 2001; Dalvi, 1985; Ansari *et al.*, 2005; Singh, 2006; Babu *et al.*, 2007).

Contrariamente, la sanguinarina ha mostrado poseer propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y antioxidantes. En Gran Bretaña y EUA su sal ha sido utilizada en enjuagues bucales y pastas dentales para inhibir la placa dental y mejorar la salud gingival (Das *et al.*, 2004).

El otro compuesto tóxico de la *Argemone* es la berberina (figura 6) que al ser suministrada en conejos se observaron síntomas de disnea, lesiones cardíacas, disminución de la presión sanguínea, paresia, hemorragias, congestión de los pulmones y lesiones renales (Aguilar *et al.*, 1982).

La protropina (figura 6) en pequeña cantidad disminuye la presión sanguínea y la actividad del corazón. En altas dosis (18 a 200 mg/Kg), suministrado por vía parenteral, en animales de laboratorio provoca excitación y convulsiones. En la rana ejerce una acción narcótica, en dosis altas anula la actividad refleja, mostrando una acción semejante a la del curare. La criptopina (figura 6) origina parálisis espinal en la rana y convulsiones en los mamíferos (Aguilar *et al.*, 1982).





**Figura 6.** Alcaloides tóxicos aislados de *Argemone*.

Los datos encontrados de su toxicidad; aparentemente contradictorios son un buen ejemplo también de la importancia que tiene la dosis de un compuesto y su modo de uso, para considerarse peligroso o benéfico para la salud. Con lo que podemos resumir que debido a los alcaloides que contiene la *A. mexicana* debe emplearse de forma cuidadosa y restringida.

### 1.3. *Cirsium ehrberengii* Sch. Bip. (Asteraceae)

#### 1.3.1. Sinónimo

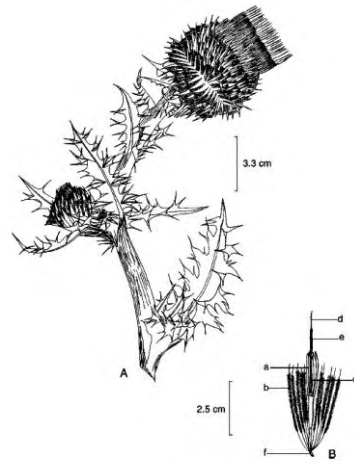
*Cirsium ehrenbergianum*

#### 1.3.2. Nombres comunes

Cardo, cardo santo, thistle.

### 1.3.3. Características botánicas

Son plantas espinosas, con flores agrupadas en capítulos y su fruto es un vilano. Planta herbácea perenne de 70 cm a 1.5 m de alto, con tallo erecto y ramificándose solo en la parte superior. Sus hojas son grandes y espinosas, con nervaduras muy marcadas en el envés, con espinas café claras de hasta 1 cm de largo (figura 7). Los capítulos florales, linguados en la periferia, sésiles y dispuestas sobre un receptáculo, cada una se encuentra acompañada por varias series de brácteas que constituyen el involucre. El color de la flor es amarillo a rojo-rosado y se hallan rodeados de espinas rojizas (Rzedowski y Calderón, 1995).



**Figura 7.** *Cirsium ehrberengii* Sch. Bip. A. rama con cabezuelas; B, flor, a. corola, b. cerdas del vilano, c. filamentos, d. estilo, e. anteras, f. ovario. Ilustrado por Humberto Sánchez Córdova.

### 1.3.4. Distribución

Ampliamente distribuida en las partes montañosas húmedas de Michoacán con vegetación de bosques de Pinos, de Abies y de Quercus, pastizales y matorrales secundarios, sobre todo en lugares perturbados, más escasa en Guanajuato y Querétaro (Rzedowski y Calderón, 1995).

### **1.3.5. Usos**

Este ha recibido el pomposo título de "santo" o "bendito" debido a sus muchas propiedades medicinales, pero sobre todo, por sus efectos contra la peste. Fue utilizado durante la Edad Media contra esta temible enfermedad, posiblemente con más fe que éxito. En el siglo XV se le suministró al emperador Federico III de Alemania, que padecía de fuertes jaquecas. En la actualidad se utiliza contra la tos ([www.hipernatural.com](http://www.hipernatural.com)).

### **1.3.6. Antecedentes farmacológicos**

De la especie no se encontraron reportes de alguna sustancia o extracto probado farmacológicamente, presentándose a continuación las actividades encontradas en plantas del mismo género.

#### **1.3.6.1. Actividad antibacteriana**

Se ha evaluado la actividad de los extractos acuoso, metanólico y etanólico de *Cirsium rivulare* (Nazaruk y Jakoniuk, 2005), además del extracto metanólico de *C. tenoreanum* (Loizzo, et al. 2004) y de *Cirsium sp*, del que se ha determinado una eficiencia del 88.8% en concentraciones de 20 µM, sobre las bacterias *E coli*, *Proteus sp*, *P. aureuginosa*, *Shigella dysinteria*, *Salmonella enteriditis*, *Salmonella tiphy*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus fecalis* (Barbour et al., 2004).

#### **1.3.6.2. Desintoxicante**

Se determinó incremento en la actividad enzimática de enzimas tales como la alcohol deshidrogenasa y, disminución la peroxidación de lípidos en ratas que se les administró oralmente una solución al 10% de alcohol durante seis semanas y se les dosificó de 250-500 mg de extracto metanólico de *C. japonicum* (Park et al., 2004).

### 1.3.6.3. Hipoglucemiante

El extracto hexánico de *C. pascuarensis* tiene un efecto hipoglucemiante sobre ratas normales y aquellas que se les indujo diabetes con aloxán (Pérez *et al.*, 2001).

### 1.3.6.4. Analgésico

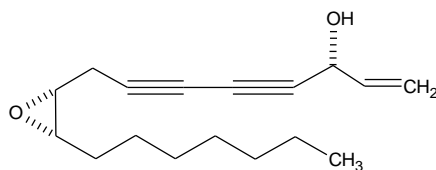
Los extractos acuosos de las partes aéreas de *C. subcoraceum* provocan un efecto analgésico, de manera dosis dependiente en ratones y ratas (Martínez-Vázquez *et al.*, 1998).

### 1.3.6.5. Neurogenesis

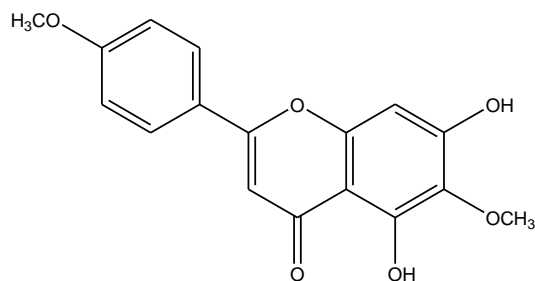
Varios alcoholes poliacetilénicos y sus linoleatos aislados de las raíces de *Panax ginseng* y *C. japonicum*; inhiben el crecimiento tumoral (Fujimoto y Satoh, 1987; 1988; Matsunaga *et al.*, 1989); y también favorecen la neurogénesis en paraneuronas cultivadas PC12h y Neuro2a. El panaxinol mejoró la memoria en animales tratados con escopolamina, sustancia que induce déficit de memoria (Yamazaki *et al.*, 2001).

### 1.3.7. Compuestos activos

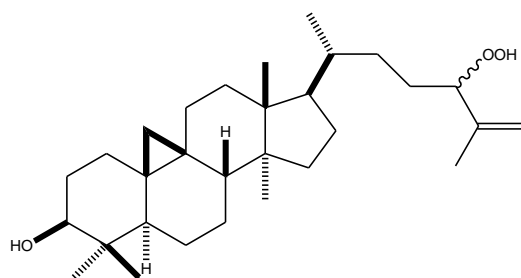
Se han aislado diversos tipos de compuestos activos, entre los que se encuentran alcoholes poliacetilénicos (figura 8), flavonas (figura 9) y triterpenoides (figura 10)



**Figura 8.** Panaxinol.



**Figura 9.** 5,7-Dihidroxi-6,4'-dimetoxiflavona.



**Figura 10.** 24-hidroperoxicicloart-25-en-3β-ol.

#### **1.4. *Heliopsis longipes* S.F. Blake (Asteraceae)**

##### **1.4.1. Sinónimo**

*Philactis longipes*

##### **1.4.2. Nombre común**

Chilcuan, chilcuague, pelitre, peritre. En la lengua azteca chilmecatl (de chili, chile y metatl, hilo, aludiendo a las raíces filiformes y al sabor picante de éstas) (Martínez, 1994).

##### **1.4.3. Características botánicas**

*H. longipes* es una hierba erecta perenne, que presenta hojas lanceoladas-oblongas, con fino pelillos y muy cortos pecíolos, con raíces gruesas (Fisher, 1957). En la figura 11 se puede observar que las hojas de *Heliopsis* presentan forma deltoidea, lanceolada, ovada o lanceo-ovada y caso especial es la filiforme, específica de *H. filifolia*.

El margen foliar es una característica importante. La mayoría de las especies presentan hojas dentadas o semidentadas, aunque algunas las tienen casi enteras o irregularmente crenadas. Poseen receptáculo convexo a cónico, flores linguales fértiles, generalmente amarillas, con flores en el disco hermafroditas aunque a veces estériles (figura 12) (Rzedowski *et al.*, 2001).



**Figura 11.** Hojas de algunas especies del género *Heliopsis*. 1) *H. filifolia*. 2) *H. bupthalmoides*. 3) *H. procumbens*. 4) *H. annua*. 5) *H. parviceps*. 6) *H. helianthoides*. 7) *H. parvifolia*. 8) *H. novogaliciana*. 9) *H. anomala*. 10) *H. longipes*. 11) *H. sinaloensis*. 12) *H. gracilis* (García-Chávez *et al.*, 2004)



**Figura 12.** *Heliopsis longipes*.

#### **1.4.4. Distribución**

Aunque restringida al hemisferio occidental, la distribución de este género es amplia, abarcando desde la región de las grandes planicies y el oriente de Estados Unidos, hasta Bolivia. Los hábitats donde viven sus especies son variados, desde regiones áridas hasta las francamente húmedas y desde las cálidas hasta las de clima templado; la abundancia de varias es favorecida por el disturbio y al menos una se comporta como maleza. Está representado por 14 especies conocidas. De estas especies, diez se encuentran en nuestro país y ocho lo son de manera endémica (García-Chávez *et al*, 2004). Únicamente crece en el noreste de Guanajuato, norte de Querétaro y sur de San Luis Potosí (Sierra Gorda) (Martínez, 1994).

#### **1.4.5. Usos**

Las raíces de *H. longipes* por su ligero sabor picante, es usada en la gastronomía mexicana; en la medicina tradicional, como analgésico y anestésico local y como antibiótico para infecciones de los aparatos respiratorio y digestivo, para cerrar llagas difíciles y hasta para la rabia (García-Chávez *et al.*, 2004).

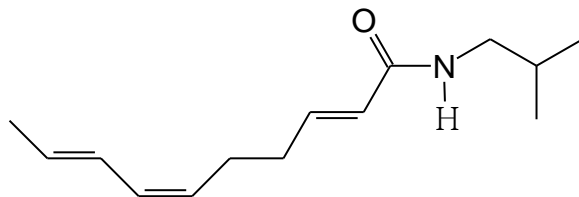
Por sus propiedades insecticidas, fue una de las plantas descubiertas por los Estados Unidos durante la segunda guerra mundial, observando que los extractos de estas raíces tienen el mismo grado de acción parálitica y toxicidad que el piretro contra moscas y otros insectos, (Little, 1948). Para satisfacer la demanda de su exportación casi llegó a su extinción y EU. realizó una exploración por su territorio y encontraron otra especie, la *H. scabre*, de la cual aislaron una amida alifática acetilénica, compuesta por una actividad insecticida que se llama escaprina (Jacobson, 1951); caracterizada por múltiples ligaduras insaturadas y siendo más efectiva que las piretrinas en ensayos con mosca casera, presentando una alta toxicidad para mamíferos (Roark, 1951).

#### **1.4.6. Antecedentes farmacológicos**

Existe una amplia variedad de sustancias activas, provenientes tanto de la familia Asteraceae como del género *longipes*.

#### 1.4.6.1. Actividad fungicida

La afinina (figura 13) aislada de las raíces y semillas de *H. longipes* ha sido probada en fitopatógenos, inhibiendo su crecimiento (Ramírez-Chávez *et al.*, 2000; Molina-Torres *et al.*, 1999; Molina-Torres *et al.*, 2004). Del mismo modo algunos extractos de plantas del mismo género han mostrado resultados favorables en el tratamiento de micosis (Ospina *et al.*, 1986).



**Figura 13.** Afinina (N-isobutil 2E, 6Z, 8E decatrienamida), principal componente bioactivo de raíces de *H. longipes* (Ramírez-Chavéz *et al.*, 2000).

Se ha observado una importante acción inhibitoria de las alcanidas de *H. longipes* sobre el desarrollo de cultivos *in vitro* de algunos hongos fitopatógenos como *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* (Molina y García, 2001).

#### 1.4.6.2. Actividad antibacteriana (bacteriostática)

La afinina proveniente de las raíces de *H. longipes* y *Capsicum sp.*, a concentraciones tan bajas como 25 µg/mL inhiben el crecimiento de microorganismos como *E. coli* y *S. cerevisiae*; a concentraciones mayores la afinina inhibe el crecimiento de bacterias como *Pseudomonas solanacearum* y *Bacillus subtilis*. Actualmente se realizan estudios de inhibición en *Erwinia carotovora*, *Rizhooctonia solanii*, *Phytophthora infestans*, *Botritis sinerea* y *Verticillum sp.* (Molina-Torres *et al.*, 1999; Molina y García, 2001; Molina-Torres *et al.*, 2004)



#### **1.4.6.3. Actividad antimalárica**

La afinina y sus derivados semisintéticos, la decamida y la decamonoenamida, presentan actividad biocida sobre la cepa de *Plasmodium falciparum* (Molina-Torres *et al.*, 1999).

#### **1.4.6.4. Actividad tripanomicida**

A concentraciones que oscilan entre los 250-500 µg/mL de extracto metanólico de la raíz de *H. longipes*, y de otras plantas de la familia, se han reportado muerte de tripomastigotes, *in vitro*, de *Trypanosoma cruzi* (Abe, 2005)

#### **1.4.7. Compuestos activos**

En el género *Heliopsis* sólo se han encontrado alcanmidas alifáticas y acetilénicas. Otro conjunto lo constituyen las amidas que presentan anillos homo o heterocíclicos. Este tipo de estructuras se observan en forma particularmente diversa en la familia Piperaceae e incluye varios alcaloides (Parmar *et al.*, 1997).

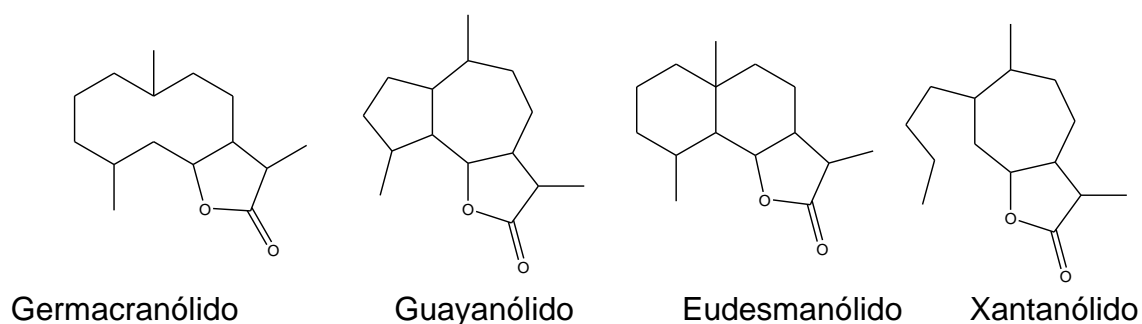
Las amidas cuya cadena acídica es alifática, dependiendo del tipo de enlaces insaturados que presenten, se pueden separar en dos grupos:

- 1) las alcanmidas olefínicas, con al menos una doble ligadura
- 2) las alcanmidas acetilénicas, con al menos una triple ligadura (Molina-Torres, 2001).

Esta especie fue la primera donde se caracterizó la presencia de una alcanmida olefínica (Acree *et al.*, 1945), el descubrimiento de la afinina, un compuesto insecticida, despertó interés por su notoria actividad. Se estudiaron raíces de especímenes colectados en México, pero no se incluyeron partes aéreas. Por error se consideró que se trataba de *Erigeon affinis*, por lo que la amida fue denominada afinina. Más tarde, se aclaró esta confusión, pero el nombre de la amida ya se había aceptado. Además es la especie que presenta más alto contenido de afinina en las raíces de esta planta y principal responsable de los efectos biológicos específicos observados.

Por su importancia, se estudió si dicho principio se encontraba en otras especies del mismo género. Recolectaron siete especies y sólo en seis se evaluó la presencia de alcanidas en raíces: *H. longipes*, *H. procumbens*, *H. novogaliciana*, *H. annua*, *H. sinaloensis* y *H. bupthalmoides*. Tomaron en cuenta la cantidad de alcanidas en las raíces de las plantas estudiadas, se les puede subdividir tentativamente en dos grupos: aquellas especies con altos niveles y diversidad de alcanidas, que incluye a *H. longipes* y a *H. novogaliciana* de las localidades de Chavarría y El Tablón; y un segundo grupo con bajas cantidades y variedad de estos compuestos en el que quedan incorporadas: *H. procumbens*, *H. annua*, *H. sinaloensis* y *H. bupthalmoides* (García-Chavez, *et al.*, 2004).

En la figura 14 se ilustran algunas lactonas sesquiterpénicas aisladas de plantas de la familia Asteraceae.



**Figura 14.** Lactonas sesquiterpénicas aisladas de la familia Asteraceae.

## 1.5. *Iresine difusa* H. B. Willd (Amaranthaceae)

### 1.5.1. Sinónimos

*I. elongata*, *I. canescens* (Humb. & Bonpl. ex Willd) *I. paniculata*, *I. celosioides*, *I. celosia* (Kuntze, non. Pair)

### 1.5.2. Nombre común

Planta de los Mayas, Juba's Bush

### 1.5.3. Características botánicas

Hierba dioica, perenne (con las flores femeninas y masculinas en diferentes individuos), de vida corta, erguida o algo trepadora. El tallo esta ramificado, a veces con pelillos multicelulares principalmente en los nudos y sus hojas son opuestas y rómbico-ovadas, con frecuencia grupitos de hojas pequeñas se presentan en las axilas de las hojas (figura 15). Las flores son sésiles o pedunculadas, el perianto compuesto de 5 tépalos libres, oblongos, blanco-verdosos, amarillentos o cremosos (Rzedowski y Rzedowski, 2001).



Figura 15. *Iresine difusa*.

### 1.5.4. Distribución

Nativa de Estados Unidos de América e islas caribeñas se encuentra con frecuencia en las orillas de caminos y parcelas en las regiones templadas y tropicales. También puede ser maleza en cultivos perennes. En México se ha registrado en Campeche, Chiapas, Chihuahua, Colima, Distrito Federal, Durango, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz y Yucatán (Villaseñor y Espinosa, 1998).

### 1.5.5. Usos

Los mayas nativos de Chiapas la utilizan para el tratamiento de varias enfermedades incluyendo malaria, tifoidea, cáncer de próstata y molestias de

uretra (Ríos y Álvarez, 2005). Sirve como alimento de animales domésticos (Vibrans, 2006)

### **1.5.6. Antecedentes farmacológicos**

Tomando en consideración su relación filogénica con la familia y otros géneros, se podrían encontrar algunas de las siguientes actividades en la especie *I. diffusa*.

#### **1.5.6.1. Actividad sobre el SNC**

El extracto metanólico de *I. herbstii* ha mostrado afinidad por los receptores 5-HT<sub>2c</sub> (serotonina), D<sub>1</sub> (dopamina) y el extracto acuoso mostró afinidad para el receptor D<sub>2</sub> en el sistema nervioso central (Nencini *et al.* 2006). El extracto acuoso de *I. herbstii* ha mostrado efectos sobre la locomoción, la coordinación y el comportamiento estereotipado al ser probado en ratones, dando la posibilidad de contener sustancias psicotrópicas (De Feo *et al.*, 1996).

#### **1.5.6.2. Inmunomodulador**

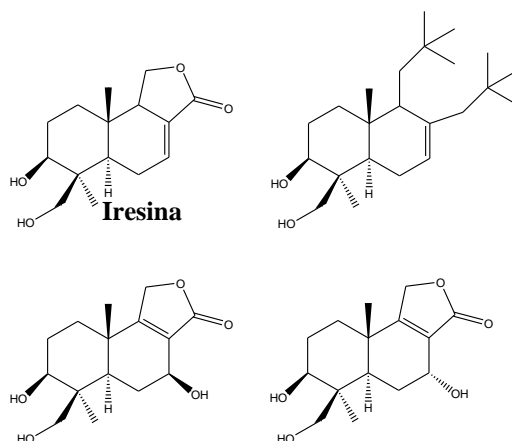
De *Alternanthera tenella* Colla, se evaluaron los extractos acuosos de hojas y tallos, en dosis de 5 y 50 mg/kg en ratones, que han sido inmunizados con células rojas de carnero o lipopolisacáridos (LPS) de *E. coli*. En el caso de los inmunizados con glóbulos rojos se ha observado una reducción de las células secretoras de IgM, y en el caso de los ratones inmunizados con LPS, se ha observado un incremento de IgM e IgG<sub>2A</sub>. Estos datos sugieren que el extracto contiene sustancias inhibitoras de la función de los linfocitos B, y que además es capaz de reducir la producción de Ag T dependientes (Guerra *et al.*, 2003).

En el ginseng brasileño (*Pfaffia paniculada*), se ha reportado que la administración de extractos de la raíz de esta planta reduce el número de células tumorales en ratones portadores del tumor de Ehrlich, probablemente por un efecto sobre los macrófagos peritoneales y otros componentes del sistema inmune (Matzusaki *et al.*, 2003). Este efecto solo logra cuantificarse a dosis de 500 mg/kg, donde se observa un incremento en la fagocitosis del macrófago y un incremento en su número (Pinello *et al.*, 2006).

### **1.5.7. Moléculas bioactivas**

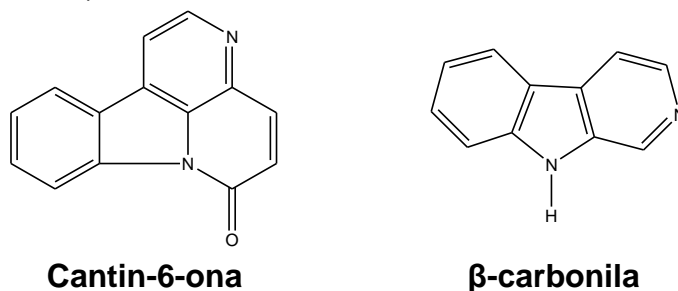
Sólo se ha descrito un artículo referente a *I. diffusa* que identifica la estructura de los posibles principios activos en las partes aéreas de la planta, encontrando

iresina, tres drimenos (figura 16),  $\beta$ -sitosterol y estigmasterol (Ríos y Álvarez, 2005).

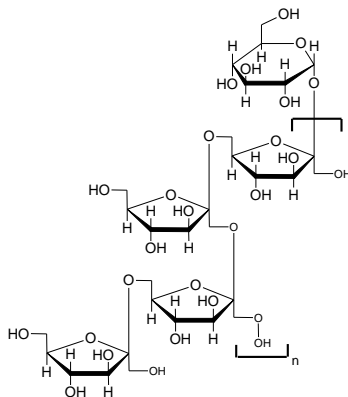


**Figura 16.** Compuestos aislados de *Iresine diffusa*.

En especies de la misma familia se han aislado alcaloides (e.g. la cantin-6-ona y la  $\beta$ -carbonila, *Aerva lanata*, figura 17) (Nevin y Vijayammal, 2003) y carbohidratos conocidos como fructanos (e.g. CoPS3 purificados de *Cyathula officinalis*, figura 18) (Chen y Tian, 2003).



**Figura 17.** Alcaloides presentes en *Aerva lanata*.



**Figura 18.** CoPS3

## **1.6. *Loeselia mexicana* (Lam) (Polemoniaceae)**

### **1.6.1. Sinónimo**

*Loeselia coccinea*, *Hoitzia mexicana* (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

### **1.6.2. Nombre común**

Hierba de la virgen, mirto silvestre, chuparrosa, huichichile, huitziltzintzin, cuachichil, cuahile, gallina ciega, hierba de San Antonio, huasicil.

### **1.6.3. Características botánicas**

Arbusto o hierba con la base leñosa, erecto, con abundantes pelos glandulares, de 1 a 2 m de alto. Hojas alternas, a veces las inferiores opuestas, casi sésiles, ovaladas o más angostas, de los márgenes con dientes que terminan en espina. Sobresalen sus flores solitarias o en grupitos de varias, ubicadas en las axilas de las hojas. Unas 10 brácteas angostas rodean la base de cada flor, las exteriores parecidas a hojitas y paulatinamente las internas se van tornando secas. La flor es un tubo que hacia el ápice se divide en 5 pequeños lóbulos de ápice puntiagudo y terminado en una arista, la corola es un tubo que hacia el ápice se divide en 5 lóbulos anchos, de color rojo, aunque muy raramente puede ser amarillo o blanco, los 5 estambres desiguales y claramente la corola (figura 19). El fruto es una cápsula casi globosa, de 4 a 6 mm de largo, que abre por 3 valvas. Semillas 2 a 5 (raramente 8) por cada lóbulos del fruto, circulares, aladas (Rzedowski y Calderón, 1995).



**Figura 19.** *Loeselia mexicana*.

#### **1.6.4. Distribución**

Planta nativa de México, de bosque de pino-encino, bosque de *Juniperus*, selva baja caducifolia. En lugares abiertos, con frecuencia perturbados, a veces en campos de cultivo abandonados (Rzedowski y Rzedowski, 2001; Rzedowski y Calderón, 1995).

Se reporta en Aguascalientes, Chiapas, Chihuahua, Colima, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luís Potosí, Sinaloa, Sonora, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas .

#### **1.6.5. Usos**

Los indígenas Otomí (Qro.) la emplean para el tratamiento de desordenes gastrointestinales (Rojas, 1998). Se emplea en las fiebres puerperal es, contra disentería, bilis, dolor e inflamación del estómago, tifoidea, bronquitis, gripe, ronquera y tos. Localmente se aplica contra la caspa y caída del pelo, rubéola, sarampión y varicela. El cocimiento de las ramas y flor se utiliza en afecciones renales, como diurético y purgante (Márquez *et al.*, 1999).

También se utiliza en la conservación y embellecimiento del cabello; además como una especie de jabón para la limpieza (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

#### **1.6.6. Antecedentes farmacológicos.**

##### **1.6.6.1. Actividad antidiarreica**

Se ha evaluado la actividad antidiarreica de extractos hexánico, clorofórmico, metanólico y acuoso de *L. mexicana*, cuando se ha administrado en ratones y/o ratas a las que se les había inducido la diarrea mediante dosis de aceite de ricino o sulfato de magnesio. Siendo el extracto acuoso efectivo contra la diarrea inducida por el aceite de ricino inhibiendo, incluso, la defecación en el ratón, mientras el extracto metanólico alivio los síntomas de la diarrea causada por el sulfato de magnesio (Pérez-Gil, *et al.*, 2005).

##### **1.6.6.2. Actividad antiespasmolítica**

Al usar un extracto cloroformo–metanol (1:1) de *L. mexicana*, en íleon de rata, se ha determinado que produce una inhibición, dependiente de la concentración, de la contracción natural intestinal (Rojas *et al.*, 1998).

### 1.6.6.3. Actividad antifúngica

El extracto metanólico de *L. mexicana* tiene actividad fungicida sobre los dermatofitos *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes* (Navarro *et al.*, 2006).

Algunas investigaciones se han realizado en miembros de la familia *Polemoniaceae* y al estar genéticamente relacionadas pueden indicar rutas a seguir en la investigación de los principios activos presentes en *L. mexicana*.

### 1.6.6.4. Actividad antiviral

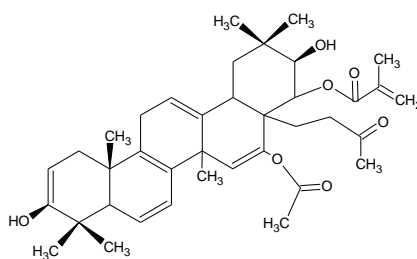
El extracto metanólico de *Ipomopsis aggregata* (*Polemoniaceae*) ha mostrado ser activo contra la cepa viral del virus de parainfluenza tipo tres cuando es empleado a concentraciones no citotóxicas (McCutcheon *et al.*, 1995).

### 1.6.7. Composición química

Los posibles principios activos por su relación de familia con otras especies son: isocucurbitacina B, cucurbitacina B, 3-epi-isocucurbitacina B, biscumarinas, escopoletina, saponinas de tipo glicoalcaloide esteroidal, sapogenina o aglicona, biscumarinas, escopoletina.

La investigación química de esta planta muestra la presencia de flavonoides y lactonas de sesquiterpenos, en adición a estos reportes incluyen también alcaloides, taninos y saponinas (Pérez *et al.*, 2005).

Un grupo de investigadores aislaron y caracterizaron una estructura perteneciente a la familia de los triterpenoides por medio de diversas técnicas de RMN, nombrando al compuesto [olean-12-en-3 $\beta$ ,16 $\alpha$ .21 $\alpha$ ,22 $\alpha$ ,28-pentol]-il-16,28-diacetato-22 $\alpha$ -angelato, (diacetato triterpénico, figura 20) (Jiménez *et al.*, 1989).



**Figura 20.** Diacetato triterpénico aislado de *Loeselia mexicana*.



### 1.6.8. Toxicidad

Las saponinas pueden causar hemólisis y son altamente tóxicas para los neutrófilos se encuentran principalmente en las hojas de la planta. El consumo de esta planta por animales conduce a estados de inmunodeficiencia, sin signos de envenenamiento evidentes. La toxicidad de la saponina es dependiente del glicósido al que se encuentra unido (Martínez, 2002).

## 1.7. *Ternstroemia lineata* (DC) (Theaceae)

### 1.7.1. Sinónimo

*Ternstroemia pringlei*, *Taonabo pringlei* Rose.

### 1.7.2. Nombres comunes

Tila, tila roja, tila de trompo, tilia.

El nombre común por el que se conoce en México, puede llevarla a confundirla con la tila original, que no pertenece a la familia de las Theaceas

### 1.7.3. Características botánicas

En el género *Ternstroemia* encontramos árboles o arbustos perennifolios; con hojas alternas, dispuestas en espiral y flores axilares, solitarias o fasciculadas de cáliz de 5 sépalos unidos en la base, coriáceos, persistentes en la fructificación, dicho género posee 85 especies principalmente de zonas tropicales de América y Asia.

La especie *lineata*, es un árbol que alcanza 15 m de alto, monopódico, ramas irregulares y horizontales, hojas angostamente oblongo-lanceoladas, flores de cinco pétalos (figura 21) y fruto ovoide (Martínez, 1979)



Figura 21. *Ternstroemia lineata*.

#### **1.7.4. Distribución**

Es una planta común en el norte de Michoacán, en bosques mesófilos de montaña, así como en encinares y pinares húmedos y donde éstos forman asociaciones con *Abies*; se distribuye principalmente en la Sierra Madre y en el eje neovolcánico (Carranza, 1999).

#### **1.7.5. Usos**

Se utiliza principalmente como calmante nervioso (Carranza, 1999). En los mercados se venden las flores como antiespasmódico y contra la tos (Martínez, 1989).

#### **1.7.6. Antecedentes farmacológicos**

Una especie de la familia donde se han encontrado importantes efectos farmacológicos es la famosa *Camellia sinensis*, originaria de China y la India, de donde se obtiene el té verde, además de la *C. japónica*, igualmente apreciada por sus hermosas flores de aroma agradable.

##### **1.7.6.1. Efectos en el SNC**

De la *T. lineata* solo se ha reportado su efecto en el Sistema Nervioso Central, al utilizar el extracto metanólico de las flores hubo un retraso en el inicio de las convulsiones tónicas inducidas por estricnina, disminuyendo el número de convulsiones que exhibían los animales y la tasa de mortalidad (Aguilar y Tortoriello, 1996).

Los extractos de *T. sylvatica* se administraron intraperitonealmente a ratas y se observó un efecto sedativo en los individuos tratados pero no ansiolítico en los animales tratados (Molina *et al.*, 1999).

##### **1.7.6.2. Efecto antioxidante**

Los extractos de las hojas de la planta *T. japonica* contiene compuestos fenólicos, ternstrosidos A-F, que neutralizan la acción tóxica del radical hidroxilo y otras especies oxidantes reactivas (Jo *et al.*, 2006). De los extractos de los frutos de dicha planta, se han identificado jacaranona y sus derivados, que tienen una actividad antioxidante débil (Jo *et al.*, 2005).

El alto contenido de polifenoles de *C. sinensis*, usados en dosis de 10 mg/mL reducen significativamente la peroxidación de lípidos que habría sido inducida mediante el uso del 1-oxido 4-nitroquilonina (Srinivasan *et al.*, 2007). El uso del extracto de té verde suprime la fibrosis pulmonar inducida por paraquat, generada por el estrés oxidativo, disminuyendo al mismo tiempo la expresión de endotelina-1 (Kim *et al.* 2006).

#### **1.7.6.4. Efecto gastroprotector**

Para colonizar el estómago del hospedador *H. pylori* expresa varios factores que pueden tener un papel en su patogénesis, uno de los más caracterizados es la citotoxina vacuolizante (VacA), la cual induce la vacuolización celular y los rearrreglos de los lisosomas y endosomas *in vitro*, lo cual daña al epitelio gástrico. *H. pylori* usa a VacA para generar canales permeables a la urea, esto promueve la difusión de la urea a través del epitelio la cual es hidrolizada por la ureasa de la *H. pylori*, lo cual conduce a la neutralización del jugo gástrico. Los polifenoles y brebajes ricos en polifenoles tales como el té verde y el vino inhiben la actividad de VacA *in vitro* y algunos lo hacen *in vivo* (Ruggiero *et al.*, 2007).

Al té verde se le han atribuido efectos protectivos contra cáncer de esófago y estómago (Guo *et al.*, 1994).

#### **1.7.6.5. Actividad hipoglucémica e hipolipidémica**

Al administrar los extractos del té verde, en forma oral y durante cuatro semanas, a ratas a las cuales se les ha inducido la diabetes al administrárseles estreptozotocina, ha resultado que las ratas, comparadas con aquellas que se les indujo diabetes y no se les administro los extractos de té verde, recuperan su peso corporal y sus niveles de glucosa. Además disminuyen los niveles de colesterol, triglicéridos, ácidos grasos libres y niveles de LDL-C (Anandh *et al.*, 2006).

#### **1.7.7. Principios activos**

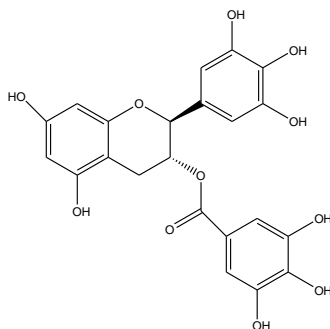
Los posibles principios activos debido a su relación filogenética con otras plantas de la misma familia y/o género.

##### **1.7.7.1. Saponinas triterpenoidales**

Se han aislado en frutos de *T. japonica* saponinas triterpenoidales bioactivas (Shin, 2003) y glicósidos en las hojas de *C. sinensis* (Morikagua, 2007).

### 1.7.7.2. Polifenoles

Los científicos se han atrevido a señalar como responsables del efecto antitumoral a las catequinas, de las que el té verde contiene cuatro importantes, epicatequina, epicatequina-3-galato, epigalocatequina y epigalocatequina-3-galato. Pero es en esta última catequina donde los investigadores estiman que reside la mayor eficacia contra el cáncer (Friedman *et al.*, 2007; Lambert y Yang, 2003; Morre y Morre, 2006; Srinivasan *et al.*, 2007).



**Figura 22.** Epigalocatequina-3-galato.

### 1.7.8. Toxicidad

Posible toxicidad observada en otras plantas de la misma familia.

Exolise, es un preparado a partir de un extracto hidroalcohólico fuerte de hojas de té verde, que se recomienda como complemento de regímenes para adelgazar. Este producto posee autorización de comercialización en Francia desde 1999 (laboratorios Arkopharma). Se han informado 13 casos de afecciones hepáticas en pacientes que han consumido Exolise, 4 de ellos graves. De estos casos, 9 fueron notificados en Francia y 4 en España. Estos casos de daño hepático poco frecuentes (1 caso por 100 000 frascos) aparecen como promedio 50 días después del comienzo del tratamiento y, en la mayoría de los casos, evolucionan favorablemente cuando este se detiene. Un caso requirió transplante hepático. Después de ello se suspendió su comercialización y retiraron los lotes de este producto el 7 de abril de 2003. Cuya decisión no se aplicó a la extracción débil del té ni a la utilización del té en la fitoterapia (Vial, 2003; Gloro *et al.*, 2005).

## 2. JUSTIFICACIÓN EXPERIMENTAL

El estudio de la biodiversidad y en particular de la flora utilizada en la medicina tradicional mexicana, nos permite identificar y aislar moléculas con actividad citotóxica y quizá una mejor actividad, especificidad y menores efectos secundarios que algunos fármacos utilizados en la actualidad. También, nos acerca al diseño o modificación de las estructuras químicas aisladas con el objeto de mejorar su farmacodinamia, farmacocinética y bioseguridad.

Además nos invita a la conservación de las áreas naturales en nuestro país así como al desarrollo de la economía local de los lugares donde crecen estas plantas, recordando que en muchos casos estas son endémicas de algunas regiones de nuestro país.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. *Objetivo general*

- Determinar la actividad citotóxica de los extractos orgánicos de 15 plantas mexicanas seleccionadas de acuerdo a características etnobotánicas, ya que todas ellas se conocen como remedios caseros para lograr un bienestar o mejorar las condiciones físicas de las personas, empleando tres líneas celulares derivadas de tumores humanos, con el fin de establecer su potencial como contenedores de moléculas citotóxicas, con la posibilidad de ser aisladas y usadas en ensayos específicos para determinarlas como sustancias activas anticancerígenas.

#### 3.2. *Objetivos específicos*

- Preparar los extractos cloroformo-metanólico de las diferentes especies.
- Evaluar la citotoxicidad de los extractos orgánicos decolorados y sin decolorar empleando tres líneas celulares derivadas de carcinomas humanos (KB, Hep-2 y HeLa).
- Determinar las concentraciones inhibitorias medias (CI<sub>50</sub>).
- Seleccionar las plantas que resulten activas y realizar una revisión bibliográfica de éstas.

#### 4. HIPÓTESIS

- Las especies seleccionadas son potenciales fuentes de moléculas citotóxicas, debido a su uso tradicional y/o relación filogenética con plantas del mismo género y/o familia, cuya actividad biológica ya ha sido reportada con bases en datos especializadas y/o publicaciones internacionales reconocidas.

## 5. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 5.1. Material vegetal

Las plantas empleadas fueron recolectadas e identificadas por el Dr. Robert Bye, investigador del Jardín Botánico de la UNAM. Un ejemplar de cada planta fue depositado en el herbario del Jardín Botánico. El número de voucher, el lugar de recolecta y las cantidades procesadas se indican en la tabla 1.

**Tabla 1.** Especies estudiadas con potencial citotóxico seleccionadas por su uso en la medicina tradicional.

Bye & Linares	Especie y Familia	Lugar de colecta	Cantidad (g)
34646	<i>Alnus acuminata</i> (Betulaceae)	Tecamozusco, México	0.5
34644	<i>Argemone ochroleuca</i> (Papaveraceae)	Yecapixtla, Morelos	0.5
34645	<i>Argemone platyceras</i> (Papaveraceae)	Tecamozusco, México	0.5
34628	<i>Chiranthodendron pentadactylon</i> (Sterculiaceae)	Ozumba, México	0.2
34640	<i>Cirsium ehrberengii</i> (Asteraceae)	Ozumba, México	0.5
34663	<i>Coriaria ruscifolia</i> (Coriariaceae)*	Tecamozusco, México	0.5
34623	<i>Crataegus mexicana</i> (Rosaceae)	Ozumba, México	0.5
34610	<i>Eryngium carlinae</i> (Apiaceae)	Ecatzingo, México	0.5
34676	<i>Heliopsis longipes</i> (Asteraceae)	Guanajuato	0.5
34664	<i>Iresine diffusa</i> (Amaranthaceae)	Tecamozusco, México	0.5
34647	<i>Loeselia mexicana</i> (Polemoniaceae)	Tecamozusco, México	0.5
34639	<i>Psittacanthus calycanthus</i> (Loranthaceae)	Achipipichi, Morelos	0.5
34641	<i>Tecoma stans</i> (Bignoniaceae)	Achipipichi, Morelos	0.5
34612	<i>Ternstroemia lineata</i> (Theaceae)	Ocoخالtepec, Morelos	0.5
34677	<i>Zornia sp</i> (Fabaceae)	Norogachic, Chihuahua	0.5

\* Se colecto por separado hoja, tallo y fruto



## 5.2. Preparación de extractos

### 5.2.1. Extracto total

- Las plantas se fragmentaron y se colocaron en matraces de 4 L.
- Se maceraron con mezcla de cloroformo-metanol 1:1 por tres ocasiones, dejando reposar durante una semana entre cada maceración.
- Se filtraron por gravedad empleando una gasa para aislar el material vegetal.
- Se eliminó el disolvente mediante el uso de un rotaevaporador y una bomba al vacío.

### 5.2.2. Extractos decolorados

Los extractos fueron sometidos a decoloraciones sucesivas empleando carbón activado y su eliminación se realizó mediante filtración sobre celita.

## 5.3. Preparación de controles

- Se pesaron 4 mg de vinblastina o colchicina y se disolvieron en 1 mL de DMSO.
- Se realizaron las diluciones indicadas en la tabla 2.

**Tabla 2.** Diluciones de los controles positivos.

Concentración	Cantidades requeridas
10 µg/mL	10µL solución inicial + 190µL H <sub>2</sub> O estéril.
2 µg/mL	40 µL solución 10 µg/mL + 160 µL DMSO 10%
0.4 µg/mL	40 µL solución 2 µg/mL + 160 µL DMSO 10%
0.016 µg/mL	8 µL solución 0.08 µg/mL + 192 µL DMSO 10%
0.0032 □ µg/mL	40 µL solución 0.016 µg/mL + 160 µL DMSO 10%

## 5.5. Preparación de muestras

- Se pesaron 4 mg del extracto y se disolvieron en 1 mL de DMSO.
- Se realizaron diluciones subsecuentes para obtener las concentraciones indicadas en la tabla 3.

**Tabla 3.** Diluciones de los extractos.

Concentración	Cantidades requeridas
20 µg/mL	20µL + 180µL H <sub>2</sub> O estéril.
4 µg/mL	40 µL + 160 µL DMSO 10%
0.8 µg/mL	40 µL + 160 µL DMSO 10%
0.16 µg/mL	40 µL + 160 µL DMSO 10%

### 5.6. Ensayo de citotoxicidad

El método fue desarrollado por Skehan *et al.* (1990) y consiste en la unión del colorante rojo ácido 52, también llamado sulforodamina, a los aminoácidos básicos de las proteínas celulares de una capa celular fijada en una microplaca, la cuantificación de la densidad óptica del colorante a 540 nm ayuda a estimar el total de la masa proteica, la cual está relacionada al número de células viables después de adicionar un material citotóxico de prueba, comparado con un grupo control positivo (células en contacto con compuestos químicos probados y causales de muerte celular, como vinblastina y colchicina) y un grupo control negativo (células a las cuales no se les adicionó material citotóxico). El procedimiento utilizado se indica a continuación.

- Las células se utilizaron cuando se observó en las cajas un 60-70 % de confluencia.
- Se cambio medio 24 h antes del ensayo.
- Se siguió el procedimiento de mantenimiento de células.
- Se calculó la cantidad de suspensión celular requerida para tener entre  $3-5 \times 10^4$  cel/mL.
- Se mezclaron 190 µL de suspensión celular en las cajas de 96 pozos que previamente contenían 10 µL de controles y muestras de prueba por triplicado, homogenizando posteriormente.
- Se incubaron a 37 °C por 72 horas.
- Se fijaron las células y se realizó el desarrollo de color para proceder a leer a 540 nm.

**5.7. Determinación de la  $CI_{50}$** 

- Se promediaron los valores obtenidos a las diferentes concentraciones.
- Se determinó el porcentaje de crecimiento a través de la siguiente ecuación.

$$\% \text{ crecimiento} = \frac{\text{D.O. células + muestra} - \text{D.O. células día cero}}{\text{D.O. células + DMSO 10\%} - \text{D.O. células día cero}} \times 100$$

- Se realizó un análisis de regresión lineal, graficando el % de crecimiento contra la concentración.




**5.8. Criterios de actividad**





Se consideraron activos los extractos que presentaron una  $CI_{50} \leq 20 \mu\text{g/mL}$ .

## 6. RESULTADOS




### 6.1 Aspecto físico de las plantas recolectadas

Con el fin de visualizar la apariencia de cada una de las plantas recolectadas, se indica a continuación una fotografía de cada especie.

Especie	Fotografía
<i>Chiranthodendron pentadactylon</i>	
<i>Cirsium ehrberengii</i>	
<i>Coriaria ruscifolia</i> Fruto	

Especie	Fotografía
<i>Coriaria ruscifolia</i> Hoja	
<i>Coriaria ruscifolia</i> Tallo	
<i>Crataegus mexicana</i>	
<i>Eryngium carlinae</i>	

Especie	Fotografía
<i>Heliopsis longipes</i>	
<i>Iresine diffusa</i>	
<i>Loeselia mexicana</i>	
<i>Psittacanthus calycanthus</i>	

Especie	Fotografía
<i>Tecoma stans</i>	
<i>Ternstroemia lineata</i>	
<i>Zornia sp</i>	

\* Fotografías tomadas por el Dr. Rogelio Pereda Miranda.

### 6.2. Selección de células para el bioensayo

Se eligieron las líneas celulares, por su disponibilidad y su capacidad de provocar alguna enfermedad carcinogénica.

- **Línea celular KB** (carcinoma nasofaríngeo). Provenientes del ser humano, con propiedades de crecimiento adherente y morfología epitelial.
- **Línea celular Hep-2** (carcinoma laríngeo). También provienen del ser humano, su morfología es epitelial.
- **Línea celular HeLa** (carcinoma de cérvix). Se obtienen del cérvix de seres humanos, su crecimiento es adherente pero también puede adaptarse a crecer en suspensión, la morfología es epitelial.

### **6.3. Datos brutos y consideraciones matemáticas del modelo**

A continuación se ejemplifica como se realizó el cálculo para llegar a calcular los valores de  $CI_{50}$  de un extracto y un control positivo (colchicina).

En cada caja de prueba se colocaron en los tres primeros pozos 10  $\mu$ L de DMSO 10%, los valores obtenidos de esta caja se etiquetan como blanco, en los siguientes nueve pozos se adicionaron 10  $\mu$ L de las diferentes concentraciones del control positivo (colchicina o vinblastina), a partir de la cuarta columna de la placa se colocan 10  $\mu$ L de las muestras a evaluar por triplicado, empleando cuatro diferentes concentraciones, finalmente, a toda la caja se le adicionaron 190  $\mu$ L de la suspensión celular y se incubó por un periodo de 72 h. En otra caja, se colocaron 190  $\mu$ L de suspensión en doce pozos y se incubó por 30 min, considerando los valores de esta caja como iniciales. En la tabla 4 se presentan los valores obtenidos de densidad óptica (DO) de las lecturas iniciales, blanco, control positivo y uno de los extractos (*Heliopsis longipes* sin decolorar).

Se obtuvieron los valores promedio de los valores iniciales y se resta a cada valor de blanco, colchicina y extracto, posteriormente se obtuvo el promedio, desviación estándar y error estándar (tabla 5).

Se aplicó la ecuación indicada en la sección 5.7 del desarrollo experimental a cada concentración de control positivo y de extracto para obtener el porcentaje de crecimiento (tabla 6).



**Tabla 4.** Valores de D.O. registrados para la línea celular HeLa.

Muestras	Repeticiones		
	A	B	C
INICIAL	0.106	0.118	0.106
	0.098	0.123	0.108
BLANCO	0.955	0.809	0.926
COLCHICINA			
2	0.057	0.06	0.068
0.4	0.07	0.068	0.075
0.016	0.158	0.146	0.15
0.0032	0.805	0.91	0.705
EXTRACTO 34676			
20	0.395	0.432	0.399
4	0.427	0.479	0.534
0.8	0.46	0.523	0.715
0.16	0.827	0.894	0.848

**Tabla 5.** Valores corregidos de D.O. para el blanco, colchicina y extracto 34676.

Muestras	A-i	B-i	C-i	PROMEDIO	Desv.Est.	Error Est.
INICIAL				0.102	0.0056	0.0023
BLANCO	0.955	0.809	0.926	0.897	0.0773	0.0446
COLCHICINA						
2	0.057	0.060	0.068	0.062	0.0057	0.0033
0.4	0.070	0.068	0.075	0.071	0.0036	0.0021
0.016	0.158	0.146	0.150	0.151	0.0061	0.0035
0.0032	0.805	0.910	0.705	0.807	0.1025	0.0592
EXTRACTO 34676						
20	0.395	0.432	0.399	0.409	0.0203	0.0117
4	0.427	0.479	0.534	0.480	0.0535	0.0309
0.8	0.460	0.523	0.715	0.566	0.1328	0.0767
0.16	0.827	0.894	0.848	0.856	0.0343	0.0198

A partir de los valores de porcentaje de crecimiento a las diferentes concentraciones se realizó un análisis de regresión lineal con el programa Jandel Scientific, obteniendo las  $CI_{50}$  indicadas en la tabla 7.

**Tabla 6.** Porcentaje de crecimiento de la línea celular HeLa al ser sometida a diferentes concentraciones de colchicina y extracto 34676 sin decolorar.

Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	% crecimiento
<b>Colchicina</b>	
2	6.9
0.4	7.9
0.016	16.9
0.0032	90.0
<b>Extracto 34676</b>	
20	45.6
4	53.5
0.8	63.1
0.16	95.5

**Tabla 7.** Valores de  $CI_{50}$  para la línea celular HeLa.

Compuesto	$CI_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Colchicina	0.0049
34676	6.1112

#### **6.4. Valores de $CI_{50}$ de los diferentes extractos.**

En las tablas 8 y 9 se presentan los valores de  $CI_{50}$  de los extractos sin decolorar y decolorados, resaltando las especies que presentaron actividad menor a 20  $\mu\text{g/mL}$ .

**Tabla 8.** Valores de citotoxicidad (CI<sub>50</sub>, µg/mL) de los extractos sin decolorar.

Especie	KB	Hep-2	HeLa
<b><i>Alnus acuminata</i></b>	>20	2.8	19.0
<b><i>Argemone ochroleuca</i></b>	5.0	>20	19.4
<i>Argemone platyceras</i>	>20	>20	>20
<i>Chiranthodendron pentadactylon</i>	>20	>20	>20
<b><i>Cirsium ehrberengii</i></b>	19.4	>20	>20
<i>Coriaria ruscifolia</i> Fruto	>20	5.0	7.0
<i>Coriaria ruscifolia</i> Hoja	>20	>20	3.5
<i>Coriaria ruscifolia</i> Tallo	>20	>20	11.5
<i>Crataegus mexicana</i>	>20	>20	>20
<i>Eryngium carlinae</i>	>20	>20	>20
<b><i>Heliopsis longipes</i></b>	19.8	>20	6.1
<b><i>Iresine diffusa</i></b>	>20	19.8	>20
<b><i>Loeselia mexicana</i></b>	>20	>20	>20
<i>Psittacanthus calycanthus</i>	>20	>20	>20
<i>Tecoma stans</i>	>20	>20	>20
<b><i>Ternstroemia lineata</i></b>	>20	2.5	>20
<i>Zornia sp</i>	>20	>20	>20
Vinblastina	0.005	0.003	0.004
Colchicina	0.003	0.003	0.005

**Tabla 9.** Valores de citotoxicidad (CI<sub>50</sub>, µg/mL) de los extractos decolorados.

<b>Especie</b>	<b>KB</b>	<b>Hep-2</b>	<b>HeLa</b>
<b><i>Alnus acuminata</i></b>	<b>&gt;20</b>	<b>3.2</b>	<b>&gt;20</b>
<b><i>Argemone ochroleuca</i></b>	<b>&gt;20</b>	<b>&gt;20</b>	<b>&gt;20</b>
<i>Argemone platyceras</i>	>20	>20	>20
<i>Chiranthodendron pentadactylon</i>	>20	>20	>20
<b><i>Cirsium ehrberengii</i></b>	<b>&gt;20</b>	<b>14.4</b>	<b>13.1</b>
<i>Coriaria ruscifolia</i> Fruto	>20	>20	>20
<i>Coriaria ruscifolia</i> Hoja	>20	>20	>20
<i>Coriaria ruscifolia</i> Tallo	>20	>20	>20
<i>Crataegus mexicana</i>	>20	>20	>20
<i>Eryngium carlinae</i>	>20	>20	>20
<b><i>Heliopsis longipes</i></b>	<b>19.8</b>	<b>&gt;20</b>	<b>4.5</b>
<b><i>Iresine difusa</i></b>	<b>&gt;20</b>	<b>15.4</b>	<b>&gt;20</b>
<b><i>Loeselia mexicana</i></b>	<b>&gt;20</b>	<b>13.0</b>	<b>&gt;20</b>
<i>Psittacanthus calycanthus</i>	>20	>20	>20
<i>Tecoma stans</i>	>20	>20	>20
<b><i>Ternstroemia lineata</i></b>	<b>18.4</b>	<b>5.1</b>	<b>&gt;20</b>
<i>Zornia sp</i>	>20	>20	>20
Vinblastina	0.004	0.002	0.005
Colchicina	0.007	0.004	0.005

## 7. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

Los extractos orgánicos se evaluaron sin decolorar y decolorados para descartar que los pigmentos no intervinieran en la actividad citotóxica y potenciar la actividad de los posibles agentes activos.

En las tablas 6 y 7 (ver sección 6.3) se observa que el extracto sin decolorar y decolorado con mayor actividad ( $CI_{50}$  2.83  $\mu\text{g/mL}$ ) sobre la línea celular Hep-2 en ambos ensayos se refiere a la planta *Alnus acuminata* indicándonos que los pigmentos del extracto no intervienen en la actividad citotóxica. De los datos reportados en la bibliografía se conoce que las plantas pertenecientes a la familia Betulacea (*i.e.* *A. acuminata*) son productoras de dos tipos de moléculas provenientes de su metabolismo secundario que explicarían la actividad citotóxica de este extracto, los triterpenoides y los diarilheptanoides.

Los triterpenoides de tipo lupano como el ácido betulínico (AB) demostraron ser potentes agentes citotóxicos contra tres líneas celulares cancerígenas (A-509, DLD-1 y B16-F1), aunque la débil hidrosolubilidad limita su utilidad (Gauthier *et al.*, 2006).

Siguiendo una de las teorías que relacionan procesos inflamatorios con el progreso del cáncer, se propone a los genes o la sobreactivación de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), y la matriz metaloproteasa-9 (MMP-9), como los blancos clave para una de las cadenas de eventos que propician el progreso cancerígeno. Esto ha sido observado en células epiteliales de seno humano (MCF10A) donde se ha inducido la sobreexpresión de estas moléculas con 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA), la hirsutenona a concentraciones de 12  $\mu\text{M}$ , inhibe la sobreexpresión COX-2 y MMP-9, esto lo logra uniéndose a la subunidad p65 del factor nuclear kapa B (NF- $\kappa$ B) (Kim *et al.*, 2006).

Se han propuesto dos posibles mecanismos que explican la actividad proapoptótica, el primero activa una vía intrínseca apoptótica mitocondrial, donde el AB hace que disminuya el potencial de membrana mitocondrial (MMP), lo cual conduce a una liberación del citocromo C y del factor inductor de la apoptosis (AIF), se activan las caspasas y la formación del apoptosoma (Einzhhammer y Xu, 2004).

La liberación del citocromo C es determinado por la inhibición de la liberación de bcl2, que es un factor antiapoptótico, el cual podría revertir el efecto del AB sobre las células cancerosas (Fulda *et al.*, 1997).

El segundo emplea una interacción entre el AB y el factor transcripcional CREB que implicaría una expresión diferencial de los genes ciclina D1, un decremento de bcl2 que implica una disminución de las defensas antiapoptóticas y un incremento de Bax, que es una proteína proapoptótica, donde el ratio Bax/bcl2 determinara la sensibilidad a diferentes estímulos apoptóticos (Raisonova *et al.*, 2001). Sin embargo, Einzhammer y Xu (2004), señala que los niveles de expresión de dichos factores inducidos por el AB se ven diferenciados por el tipo de tejido o por una línea celular específica.

Tanto el AB y algunos de sus derivados como la 3-cafeilbetulina y la 3-O-glutarildihidrobetulina, forman un grupo de potentes agentes citotóxicos, a comparación de la inocua betulina por lo que ha existido un intenso esfuerzo por diseñar moléculas más eficientes del AB y sus derivados (Shentsova *et al.*, 2005; Symon *et al.*, 2005; Kvasnica *et al.*, 2005; Yogeesvari *et al.*, 2005; Murkherjee *et al.*, 2004; You *et al.*, 2003). Shentsova y colaboradores (2005), reportaron que adicionar glucosa en el carbono 3 del AB incrementa su actividad citotóxica. Por otro lado se descubrió que el éster hemifáltico de la 3-O-glutarildihidrobetulina es más activa que el propio AB (Kvasnica *et al.*, 2005).

En otro estudio también se observó tener un potente efecto antiproliferativo en cultivos celulares de neuroblastoma, rhabdomyosarcoma-meduloblastoma, glioma, carcinoma de colon y glioblastoma multiforme y en cultivos primarios de carcinoma de ovario. Además vieron que decreta la motilidad de las células cancerosas e induce apoptosis (Rzeski *et al.*, 2006).

Se ha demostrado que la betulina tiene efectos hepatoprotectores y la combinación de la betulina y el ácido betulínico que probablemente se encuentran en el extracto que hemos probado, pueden ser las responsables de que la actividad reportada. O bien puede haber una forma conjugada del ácido betulínico (con algún carbohidrato o bien como algún tipo de sal) que hace que el extracto muestre actividad como la de un compuesto puro (criterios de Geran, 1972).

En cuanto a los diarilheptanoides, se ha encontrado que la hirsutenona, puede servir como sustancia quimiopreventiva capaz de inhibir la metástasis y de bloquear mecanismos de defensa de las células cancerosas, volviéndolas

sensibles a la apoptosis. La oregonina actúa como inmunomodulador al aumentar la actividad de las células NK, por lo que conduce a una actividad antitumoral (Joo *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2006).

Esto nos direcciona a proponer el desarrollo de ensayos *in vivo* con las moléculas que se puedan aislar y/o con los extractos de *Alnus acuminata* para identificar propiedades inmunomoduladoras en esta planta.

La  $\delta$ -amirona, aislada de *A. japónica* y de otras especies de betuláceas, mostró un efecto citotóxico contra leucemia murina (P-388) y carcinoma de nasofaringe humano (KB) (Salama y Alvedaño, 2005; Wollenweber, 1976; Jaipetch, 1983; Kuo, 1996; Zahir, *et al.*, 1996).

La siguiente planta con actividad es *Ternstroemia lineata* (5.1  $\mu\text{g/mL}$ ) que actuó sobre la línea celular Hep-2 tanto en su forma decolorada como sin decolorar, implicando que los pigmentos encontrados en el extracto no afectan la actividad citotóxica de la planta ensayada.

A la epigallocatequina-3-galato se le han atribuido principalmente propiedades anticancerígenas por diversos mecanismos, mediante el bloqueo de ciertas etapas de la carcinogénesis; Liang *et al.*, 1997; Masuda *et al.*, 2001; Nam *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 2001; 2002).

La epigallocatequina-3-galato y el vainiloide capsaicina, son los más potentes y efectivos inhibidores de la proteína tNOX, la cual permite la sobrevivencia de las células cancerígenas, pero si es bloqueada la célula falla al crecer y se dirige hacia un proceso apoptótico (Cooper *et al.* 2005). Se ha demostrado que combinaciones de EGCg y el vainilloide son de 10 a 100 veces más efectivos que al ser usados de forma individual. (Morre y Morre, 2006).

Otro estudio mostró la capacidad del EGCg de detener el ciclo celular en G1, al disminuir los niveles de la ciclina D1 y otras relacionadas comparados con un grupo control que no recibía EGCg ocasionando la regresión tumoral y además induciendo la apoptosis de las células cancerígenas *in vivo* e *in vitro* (Thangapazham *et al.*, 2007).

Se han investigado los efectos del té verde sobre cultivos de células PC12, a las cuales se les había inducido muerte celular oxidativa provocada por el péptido beta-amiloide; encontrando que las células tratadas con dicho extracto se disminuyó la muerte celular y el número de especies reactivas de oxígeno intracelulares. Además de disminuir la expresión de los genes para las proteínas p53, bax y caspasa-3, al mismo tiempo aumentando los niveles de expresión genética de bcl-2 (Lee *et al.*, 2005)

El aminoácido teanina contenido en el té negro, las catequinas y los extractos acuosos agua-etanol (80%) en el té verde, se han evaluado en su capacidad de inducir la muerte celular en células cancerígenas y células normales. La evaluación mostró que el efecto anticancerígeno es dependiente de la dosis de los compuestos evaluados, y las DE<sub>50</sub> se encontraron en un intervalo de 50-400 µg/mL (Friedman *et al.*, 2007).

Una mezcla de nutrientes que contiene entre sus ingredientes extracto de té verde, ha sido evaluada en su capacidad antitumoral al ser usada sobre la línea celular cancerígena de pulmón (A-549), donde resulta una supresión del crecimiento tumoral además de inhibir la secreción de metaloproteasas de matriz extracelular. Dicha mezcla también ha sido probada en la metástasis pulmonar de células de melanoma (b16fo), resultando en una disminución de hasta el 63% (al ser tomada en la dieta) y 86% (al ser administrada intraperitonealmente) de la colonización de las células de melanoma. Al parecer la metástasis está disminuida por la inhibición de metaloproteasas de la matriz extracelular (Roomi *et al.*, 2006).

Todo lo anterior nos conduce a pensar que estos compuestos o análogos a ellos se encuentran por razones filogenéticas y quimiotaxonomicas en *T. lineata*.

Evaluar este extracto *in vivo* podría identificar si existe algún principio capaz de estabilizar la unión de las catequinas a tNOX, o si bien es alguna otra catequina con una unión más estable.

En tercer lugar se tiene al extracto sin decolorar de *Argemone ochroleuca* con una CI<sub>50</sub> de 5.0 µg/mL sobre la línea celular KB y 19.4 sobre HeLa, pero que cuando se ha decolorado cambia drásticamente a un valor mayor a 20 µg/mL sobre ambas



líneas, lo cual nos indica que el pigmento presente en el extracto ocasiona el efecto citotóxico.

La citotoxicidad se ha visto en extractos del género *Argemona* y se han encontrado en las semillas de *A. mexicana* diversos alcaloides tales como la sanguinarina, que ha mostrado ser genotóxica, además en esta planta se han identificado alcaloides de tipo benzofenantridina y tipo benzilisoquinolina que tienen un efecto citotóxico significativo sobre líneas celulares, NUGC y HONE-1 (Chang *et al.*, 2003). Se ha reportado que el extracto metanólico de *A. mexicana* tiene actividad antiproliferativa, sobre líneas celulares de cáncer de seno (MCF7 y MDA-MB-231), teniendo menor efecto en la segunda línea. En dicho estudio fue importante medir el efecto del receptor alfa de estrógeno (RE $\alpha$ ), ya que su ausencia ha sido asociado a la recurrencia del cáncer de seno; por lo que se probó que dicho extracto fue capaz de transformar las células no expresas del gen RE $\alpha$  MDA-MB-231, a expresas del gen RE $\alpha$  (Lambertini *et al.*, 2004).

De las hojas de *A. mexicana* se han extraído mezclas de polisacáridos, que fueron ensayados sobre la proliferación celular de adenocarcinoma de pulmón (H125 y U1906). Esta mezcla fue administrada a ratones inoculados con células tumorales de leucemia, provocando el rechazo de la implantación del tumor y cuando fue administrada con un citoestático (5-fluoracilo) se produjo un incremento modulado de su actividad antitumoral. Dichos descubrimientos podrían conducir a la modulación del sistema inmune por parte de los polisacáridos de esta planta (Pérez-Gil *et al.*, 2005).

Para *Heliopsis longipes*, en su versión decolorada y sin decolorar se obtuvo una CI<sub>50</sub> de 9.4 y 4.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y, por lo tanto, los pigmentos del extracto no afectan de manera significativa su actividad citotóxica, los datos bibliográficos que apoyan esta actividad provienen de plantas de la familia Asteraceae, donde se han identificados lactonas de tipo sesquiterpénico, como responsables de su acción citotóxica (Scotti *et al.*, 2007).

La actividad citotóxica en general se asocia a la presencia de una lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada que actúa como un agente alquilante de los sustratos biológicos (Davies-Coleman y Rivett, 1989).

Aunque de la especie *H. longipes* no se ha reportado actividad citotóxica, algunas plantas de la familia Astereaceae, si han mostrado dicha actividad farmacológica y al estar relacionadas genéticamente estas evidencias junto con la actividad encontrada en el extracto pueden encaminar la búsqueda de estos principios activos en *H. longipes*.

Fracciones diclorometanólicas de la planta *Vernonia scorpioides* han inhibido y/o abolido el crecimiento del tumor desarrollado por células de Erhlich en ratones, cuando es aplicado en dosis de 5 mg/kg; después de la incubación de las células cancerígenas en los ratones, a determinado periodo, exhiben una actividad pro-inflamatoria (Pagno *et al.*, 2006).

El extracto hexánico de la raíz de algunas *Echinaceas* han reducido la viabilidad de líneas celulares cancerígenas de una manera concentración dependiente. De entre estas plantas los extractos de *E. pallida* se han reportado como inductores de apoptosis al incrementar la actividad de las caspasas 3/7 y promoviendo la fragmentación del DNA nuclear en células PaCa-2 y COLO 320 (Chicca *et al.*, 2007).

Finalmente, *Cirsium ehrberengii*, *Iresine difusa* y *Loeselia mexicana* muestran apenas actividad significativa siendo su  $CI_{50}$  entre los 13-19.8  $\mu\text{g/mL}$ , después de decolorar el extracto.

En el caso del genero *Cirsium*, en particular el extracto metanólico de *C. bractoseum* provocó cambios apoptóticos, con actividad sobre células la línea celular leucémica K562 ( $CI_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$ ) (Amirghofran *et al.* 2006). La flavona aislada de *C. japonicum* inhibe el crecimiento de tumores implantados en ratones (S180, sarcoma de ratón y H22, cáncer de hígado de ratón). También se determinó que promueve la respuesta inmune celular y humoral (Liu *et al.*, 2006). A partir de *C. setidens* se han aislados terpenos, de entre estos el 24-hidroperoxicicloart-25-en-3 $\beta$ -ol ha exhibido actividad citotóxica contra cinco líneas cancerígenas humanas, mostrando valores de  $CI_{50}$  en el intervalo de 2.66-11.25  $\mu\text{m}$  (Lee *et al.*, 2002).

En la familia de *Iresine diffusa*, se ha reportado citotoxicidad en los extractos de la planta *Gomphrena macrocephala* de la cual se han aislado triterpenoides glicosilados de los cuales las agliconas con grupos epoxi tienen actividad citotóxica sobre células de carcinoma oral escamoso (HSC-2) (Kuroda *et al.*, 2006). Las fracciones parcialmente purificadas del extracto de éter de petróleo de *Aerva lanata*, son citotóxicas hasta concentraciones de 50 µg/mL, para células cancerígenas de Ehrlich y DLA (Dalton's linfoma ascitos); además de incrementar la expectativa de vida en ratones que se les inducía un tumor sólido con células DLA, se piensa que esto se debe a alcaloides como la cantin-6-ona y la β-carbolina (Nevin y Vijayammal, 2003). El fructano CoPS3 purificado de *Cyathula officinalis*, disminuye el peso de tumores y el radio de crecimiento del carcinoma pulmonar de Lewis, cuando es administrado intraperitonealmente en dosis de 200 y 100 mg/kg, durante de 10 días después de 24 hrs. de haber implantado las células tumorales (Chen y Tian, 2003).

De este modo podríamos dirigir el fraccionamiento de los extractos de *Iresine diffusa* para poder encontrar triterpenoides glicosilados y/o alcaloides, los cuales podrían ser los responsables de la actividad detectada en el extracto.

No hay datos bibliográficos que respalden lo encontrado en el género *Loeselia*, pero de la familia Polemoniaceae, se han aislado agentes anticancerígenos del extracto acuoso-metanólico de la planta *Ipomopsis aggregata*, identificados como isocucurbitacina B, cucurbitacina B y 3-epi-isocucurbitacina B (Arisawa *et al.*, 1984). Además de la cucurbitacinas *I. aggregata* contiene biscumarinas y escopoletina (cumarina) identificadas como agentes citotóxicos (Arisawa *et al.*, 1984).

La relación de familia entre el género *Loeselia* e *Ipomopsis* nos indicarían que los componentes causales de la citotoxicidad registrada podrían ser curcubitacinas o similares.

## 8. CONCLUSIONES.

Se identificaron plantas con actividad citotóxica significativa determinadas por los criterios de Geran y colaboradores (1972) *Argemone ochroleuca*, *Alnus acuminata*, *Cirsium ehrberengii*, *Heliopsis longipes*, *Iresine difusa*, *Loeselia mexicana* y *Ternstroemia lineata*.

Los datos de  $CI_{50}$  de los extractos de las plantas con actividad más significativa se acercan y/o están en el rango de los compuestos puros: *Alnus acuminata* 2.8  $\mu\text{g/mL}$ , *Ternstroemia lineata* 3.1  $\mu\text{g/mL}$ , *Heliopsis longipes* 4.5  $\mu\text{g/mL}$  y *Argemona ochroleuca* 5.0  $\mu\text{g/mL}$ .

Los pigmentos no interfieren en la actividad citotóxica excepto en *Argemone ochroleuca*.

Los cultivos celulares más susceptibles a los extractos son el Hep-2, seguido del KB.

## 9. PERSPECTIVAS.

Los factores que deben de comprobarse en futuros estudios, referentes a la actividad de los extractos aquí ensayados y que pueden ser determinantes para la actividad reportada, son:

La identificación de los componentes de cada extracto.

La cuantificación de los componentes del extracto.

El ensayo individual y en combinaciones de los componentes del extracto.

Ensayos en diferentes líneas celulares a las aquí ensayadas.

Ensayos diferentes al realizado en nuestro experimento.

Estandarizar ensayos *in vivo* de la actividad citotóxica.

La comparación de los componentes de los extractos con lo reportado en la bibliografía (si existe).

Combinado estos factores con alguno de los resultados de los extractos podríamos explicar la actividad reportada y podemos proponer pasos sucesivos para la optimización del ensayo. Por ejemplo, se puede especular que el efecto citotóxico encontrado en el extracto decolorado de *Loeselia mexicana*, es debido a que contiene compuestos citotóxicos específicos que por sí solos o combinados y en la concentración adecuada funcionaria en cualquier línea celular, que se deben de purificar los componentes para ensayarlos y que deberíamos probar otros ensayos tanto *in vitro* como *in vivo* para estimar los alcances del potencial citotóxico de los compuestos responsables.

Lo anterior nos indica que las condiciones por las cuales se halló el efecto citotóxico reportado son multifactoriales y que el ensayo nos ayuda a descartar las plantas inactivas, haciendo un filtro para futuros experimentos o análisis químico.

---

---

## 10. BIBLIOGRAFIA

Abe, F.; Nagafuji, S.; Okawa, M.; Kinjo, J.; Akahane, H.; Ogura, T.; Martinez-Alfaro, M. A. and Reyes-Chilpa, R. (2005) Trypanocidal Constituents in Plants: Evaluation of Some Mexican Plants for Their Trypanocidal Activity and Active Constituents in the Seeds of *Persea Americana*, *Biol. Pharm. Bull.* **28** (7): 1314-1317.

Aguilar Santamaria, L. y Tortoriello, J. (1996) Anticonvulsant and sedative effects of crude extracts of *Ternstroemia pringlei* and *Ruta chalepensis*. *Phytotherapy Research* **10** (6): 531-533.

Acree, F., Jacobson, M, y Haller, H. L. (1945). The structure of affinin, the insecticidal amide from *Erigeron affinis* D.C. *J Org Chem* **10**: 449-451.

Aguilar, CA. y Zolla, C. (1982) *Plantas tóxicas de México*. Unidad de Investigación Biomédica en Medicina Tradicional y Herbolaria. Instituto Mexicano del Seguro Social. Lafuente Impresores, 271 pp.

Amirghofran, Z.; Bahmani, M; Azadmehr, A. y Javidnia, K. (2006) Anticancer effects of various Iranian native medicinal plants on human tumor cell lines. *Neoplasma* **53** (5): 428-433.

Anandh, P. V.; Sabitha, K. E. y Shyamaladevi, C. S. (2006) Green tea extract impedes dyslipidaemia and development of cardiac dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* **33** (12): 1184-1189.

Ansari, K. M.; Dhawan, A.; Khanna, S. K. y Das, M. (2005) *In vivo* DNA damaging potential of sanguinarine alkaloid, isolated from argemone oil, using alkaline Comet assay in mice. *Food Chem Toxicol.* **43** (1): 147-53.

Arisawa, M.; Pezzuto, J. M.; Kinghorn, A. D.; Cordell, G. A. y Farnsworth, N. R. (1984) Plant anticancer agents. XXX: Cucurbitacins from *Ipomopsis aggregata*. *J Pharm Sci* **73** (3): 411-413.

Babu, C. K.; Khanna, S. K. y Das, M. (2007) Adulteration of mustard cooking oil with argemone oil: do Indian food regulatory policies and antioxidant therapy both need revisitation. *Antioxid Redox Signal* **9** (4): 515-525.

- Baillie G. V. (2003). The earth's perfume. Proteinspotligh June, Issue 35  
<http://www.expasy.ch/spotlight/pdf/sptlt035.pdf>.
- Bandoni, A. L.; Stermitz, F. R.; Rondina, R. V. D. y Coussio, J. D. (1975) Alkaloidal Content of Argentine Argemone. *Phytochem* **14**: 1785.
- Barbour, E. K.; Al-Sharif, M.; Sagherian, V. K.; Habre, A. N.; Talhouk, R. S. y Talhouk, S. N. (2004) Screening of selected indigenous plants of Lebanon for antimicrobial activity. *J. Ethnopharm* **93** (1): 1-7.
- Bernal, H. Y. y Correa J. E. Q. (1989) *Alnus acuminata* ssp. *acuminata*. Pp. 126–161 en: Especies promisorias vegetales de los países del Convenio Andrés Bello. Tomo II. SECAB Ciencia y Tecnología 12, Bogotá.
- Bhattacharjee, I.; Chatterjee, S. K.; Chatterjee, S.; Chandra, G. (2006) Antibacterial potentiality of *Argemone mexicana* solvent extracts against some pathogenic bacteria. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro **101** (6): 645-648.
- Blake, S. (1924) New American Asteraceae. *Heliopsis longipes* (A. Gray) Blake. *Contributions from the U.S. National Herbarium* **22**: 608-609.
- Calderon de Rzedowski, G (1991) Papaveraceae. *Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes*. Instituto de Ecología, Centro Regional del Bajío Pátzcuaro, Michoacán, Fascículo 1.
- Capasso, A.; Piacente, S.; De Tomás, N.; Rastrelli, L. y Pizza, C. (2006) The effect of isoquinoline alkaloids on opiate withdrawal. *Curr. Med. Chem.* **13** (7): 807-812.
- Carranza González, E. (1999) *Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes*. Instituto de Ecología, Centro Regional del Bajío Pátzcuaro, Michoacán, Fascículo 73.
- Carrillo-Rosario, T. y Díaz de Ramírez, A. (2005) Actividad antimalárica de extractos crudos de plantas en ratones infectados con *Plasmodium berghei*. *Revista de la Facultad de Farmacia* **47** (1)
- Chai, H. B. y Pezzuto, M. J. (1997) *In vitro* anticancer drug screening: human cancer cell line. *Program for Collaborative Research in the Pharmaceutical*

---

Sciences, Department of Medicinal Chemistry and Pharmacology, College of Pharmacy, University of Illinois at Chicago.

Chang, Y. C.; Chang, F. R.; Khalil, A. T.; Hsieh, P. W. y Wu Y. C. (2003) Cytotoxic benzophenanthridine and benzyloisoquinoline alkaloids from *Argemone mexicana*. *Z. Naturforsch [C]* **58** (7-8): 521-526.

Charbonnier, Th. (1968) Recherches pour servir à l'histoire botanique, chimique et physiologique de l'*Argemone* du Mexique, Paris.

Chakrabarti T. (1954) Bull Calcutta School of Tropical Medicine, 2.

Chen, X. M. y Tian, G. Y. (2003) Structural elucidation and antitumor activity of a fructan from *Cyathula officinalis* Kuan. *Carbohydr Res* **338** (11): 1235-1241.

Chicca, A.; Adinolfi, B.; Martinotti, E.; Fogli, S.; Breschi, M. C.; Pellati, F.; Benvenuti, S. y Nieri, P. (2007) Cytotoxic effects of *Echinacea* root hexanic extracts on human cancer cell lines. *J Ethnopharmacol.* **110** (1): 148-153.

Chien, N. Q.; Hun, N. V.; Santarsiero, B. D.; Mesecar, A. D.; Cuong, N. M.; Soejarto, D. D.; Pezzuto, J. M.; Fong, H. H.S. y Tan, G. T. (2004) New 3-O-Acyl Betulinic Acids from *Strychnos vanprukii* Craib. *J. Nat. Prod.* **67**: 994–998.

Cho, S. M.; Kwon, Y. M.; Lee, J. H.; Yon, K. H. y Lee, M. W. (2002) Melanogenesis inhibitory activities of diarylheptanoids from *Alnus hirsuta* Turcz in B16 mouse melanoma cell. *Arch Pharm Res.* Dec; 25(6):885-8.

Cooper, R.; Morr , J.; Morr , D. (2005) Medicinal Benefits of Green Tea: Part II. Review of Anticancer Properties. *The journal of alternative and complementary medicine* **11** (4): 639–652.

Cordero, J. y Boshier, D. H. (eds.) 2003. * rboles de Centroam rica*. OFI/CATIE [http://herbaria.plants.ox.ac.uk/adc/buscadores/busca\\_ncomunes.asp](http://herbaria.plants.ox.ac.uk/adc/buscadores/busca_ncomunes.asp) accessed 21/01/2005.

Das A, Mukherjee A, Chakrabarti J. (2004) Sanguinarine: an evaluation of in vivo cytogenetic activity. *Mutat Res* **563**: 81–87

Dalvi, R. R. (1985) Sanguinarine: its potential as a liver toxic alkaloid present in the seeds of *Argemone mexicana*. *Experientia* **41** (1): 77-78.



---

De Feo, V.; Capasso, A. y De Sorretino, F. (1996) CNS Pharmacological effects of aqueous extract from *Iresine herbstii*. *Int. J. Pharm.* **34** (3): 184-188.

De Luca, T.; Morre, D. M. y Morré, D. J. (2005) NAD<sup>+</sup>/NADH and/or CoQ/CoQH<sub>2</sub> ratios from plasma membrane electron transport may determine ceramide and sphingosine-1-phosphate levels accompanying G1 arrest and apoptosis. *BioFactors* **25**: 43-60.

Dong M. S.; Kim H. J.; Kang, G. M.; Na, C. S.; Kim, H. L.; Chung H. S. y Park Y. I. (2005) Antibacterial effect of *Alnus japonica* studied against *Helicobacter pilori*. [www.iceb2005.com/pdfs/poster\\_presentations.pdf](http://www.iceb2005.com/pdfs/poster_presentations.pdf)

Einzhammer, D. A. y Xu, Z. Q. (2004) Betulinic acid: a promising anticancer candidate. *J Drugs* **4**: 359-363.

Fernandez, J.; Reyes; R.; Ponce, H.; Oropeza, M.; Vancalsteren, M. R.; Jankowski, C. y Campos M. G. (2005) Isoquercitrin from *Argemone platyceras* inhibits carbachol and leukotriene D<sub>4</sub>-induced contraction in guinea-pig airways. *Eur J Pharmacol.* **522** (1-3): 108-115.

Fisher, T. R. (1957) Taxonomy of the genus *Heliopsis* (Compositae). *Ohio J Sci.* **57**: 171-191.

Flekhter, O. B.; Karachurina, L.; Poroikov, V.; Nigmatullina, L.; Baltina, L.; Zarudii, F.; Davydova, V.; Spirikhin, L.; Baikova, I.; Galin, F. y Tolstikov, G. (2000) The Synthesis and Hepatoprotective Activity of Esters of the Lupane Group Triterpenoids. *Bioorg. Khim*, **26** (3):191-200.

Friedman, M.; Mackey, B. E.; Kim H. J.; Lee I. S.; Lee, K. R.; Lee, S. U.; Kozukue, E. y Kozukue, N. (2007) Structure-activity relationships of tea compounds against human cancer cells. *J Agric Food Chem.* **55** (2): 243-253.

Fujimoto, Y. y Satoh, M. (1987) Acetylenes from the callus of *Panax ginseng*. *Phytochem* **26**: 2850-2852.

Fujimoto, Y. y Satoh, M. (1988) A new cytotoxic chlorine-. containing polyacetylene from the callus of *Panax ginseng*, *Chem. Pharm. Bull.* **36**: 4206-4208.

Fulda, S.; Friesen, C.; Los, M.; Scaffidi, C.; Mier, W.; Benedict, M.; Nuñez, G.; Krammer, P. H.; Peter, M. E.; Debatin, K. M. (1997) Betulinic acid triggers CD95

---

(APO-1/Fas)- and p53-independent apoptosis via activation of caspases in neuroectodermal tumors. *Cancer Res* **57**: 4956-4964.

Furlow J. J. (1976) Nomenclatural changes in *Alnus* (Betulaceae) *Ann Missouri Bot Gard* **63**: 380-381.

Furlow, J. J. (1979a). The systematics of the American species of *Alnus* (Betulaceae). Part I. *Rhodora* **81**: 1-121.

Furlow, J. J. (1979b). The systematics of the American species of *Alnus* (Betulaceae). Part II. *Rhodora* **81**:151-248.

García-Chavéz, A.; Ramírez, C. E. y Molina-Torres, J. (2004) El género *Heliopsis* (heliantheae; asteraceae) en México y las alcanidas presentes en sus raíces. *Acta Botanica Mexicana* **69**: 115-131.

Gauthier, C.; Legault, J.; Lebrun, M.; Dufour, P. y Pichette, A. (2006) Glycosidation of lupane-type triterpenoids as potent in vitro cytotoxic agents. *Bioorg Med Chem*. **14** (19): 6713-6725.

Ger. Pat., 19,532,006 (1997).

Geran, R. I.; Greenberg, N.H.; McDonald, M. M.; Schumacher, A. M. y Abbott, B. J. (1972) Protocols for screening chemical agents and natural products against animal tumor and other biological systems. *Cancer Chemother Rep* **3**: 1-103.

Gloro R.; Hourmand-Ollivier, I.; Mosquet, B.; Mosquet, L.; Rousselot, P.; Salame, E.; Piquet, M. A. y Dao, T. (2005) Fulminant hepatitis during self-medication with hydroalcoholic extract of green tea. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. **17** (10): 1135-1137.

Guerra, R. N. M.; Pereira, H. A. W.; Silveira, L. M. S. y Olea, R. S. G. (2003) Immunomodulatory properties of *Alternanthera tenella* Colla aqueous extracts in mice. *Brazilian J Med Biol Res* **36**: 1215-1219.

Haisova y Salvik (1973) *Collect Czech Chem Commun* **38**: 2307.

Hakim, S. A. (1967) Argemone oil, sanguinarine, dropsy, glaucoma and cancer. *Indian Pract*. **20** (1): 129-141.

Hieronymus, G. (1882), *Plantae Diaphoricae Florae Argentinae* - Bs. A.s, Ed. Kraft, **16**, 161-404.

Isralivov, I. A. (1987) *Chem Nat Comp* **22** (6): 742.

Jacobson, M. (1951). Constituents of *Heliopsis* species. I. Scabrin, an insecticidal amide from the roots of *H. scabra* Dunal. *Journal of the American Chemical Society* **73**: 100-103.

Jaipetchi, T.; Reutrakul, V.; Tuntiwachwuttkul, P. y Santizuk, T. (1983) Flavanoids in the black rhizomes of *Boesenbergia pandurata*. *Phytochem* **22**, 625.

Jiménez, M.; Velásquez, K.; Lira R. A.; Ortega, A.; Díaz, E.; Aumelas, A. y Jandowski, K. (1989) Structure of a pentacyclil tryterpenylangelate from *Loeselia mexicana* proton 2D-NMR data an stereochemistry. *Can J Chem* **67** (12): 2071-2077.

Jin W.; Cai, X. F.; Na, M.; Lee, J. J. y Bae, K. (2007) Diarylheptanoids from *Alnus hirsuta* inhibit the NF-kB activation and NO and TNF-alpha production. *Biol Pharm Bull.* **30** (4): 810-813.

Jo, Y.; Suh, J.; Shin, M. H.; Jung, J. H. y Im, K. S. (2005) Jacaranone and related compounds from the fresh fruits of *Ternstroemia japonica* and their antioxidative activity. *Arch Pharm Res* **28** (8): 885-888.

Jo Y, Kim M, Shin MH, Chung HY, Jung JH, Im KS (2006) Antioxidative phenolics from the fresh leaves of *Ternstroemia japonica*. *J Nat Prod* **69** (10): 1399-1403.

Joo, S. S.; Kim, M. S.; Oh, W. S. y Lee, D. I. (2002) Enhancement of NK cytotoxicity, antimetastasis and elongation effect of survival time in B16-F10 melanoma cells by oregonin. *Arch Pharm Res.* **25** (4): 493-499.

Kang H. M.; Ryong, K. J.; Jeong, T. S.; Choi, S. G.; Ryu, Y. H.; Taeg, O. G.; Baek. N. I. y Kwon, B. M. (2006) Cyclic diarylheptanoids inhibit cell-mediated low-density lipoprotein oxidation. *Nat Prod Rep* **20** (2): 139-143.

Kim, H. J.; Yeom, S. H.; Kim, M. K.; Shim J. G.; Paek, I. N. y Lee, M. W. (2005) Nitric oxide and prostaglandin E2 synthesis inhibitory activities of diarylheptanoids from the barks of *Alnus japonica* steudel. *Arch Pharm Res.* **28** (2): 177-179.

Kim, J. H.; Lee, K. W.; Lee, M. W.; Lee, H. J.; Kim, S. H. y Surh, Y. J. (2006) Hirsutenone inhibits phorbol ester-induced upregulation of COX-2 and MMP-9 in cultured human mammary epithelial cells: NF-kappaB as a potential molecular target. *FEBS Lett.* **580** (2): 385-392.

Kim, S. T.; Kim, J. D.; Ahn, S. H.; Ahn, G. S.; Lee, Y. I. y Jeong, Y. S. (2004). Hepatoprotective and antioxidant effects of *Alnus japonica* extracts on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Phytother Res.* **18** (12): 971-975.

Krasutsky, P.A. (2006) Birch bark research and development. *Nat Prod Rep* **23**: 919-942.

Ku, Y. L.; Rao, G. V.; Chen, C. H.; Wu, C.; Guh, J. H. y Lee, S-S (2003) A Novel Secobetulinic Acid 3,4-Lactone from *Viburnum aboricolum*. *Helv Chim Acta*, **86** (3): 697–702.

Kuo, Y. H.; Way, S. T. y Wu, C. H. (1996) A new triterpene and new Lignan from *Saussurea japonica*. *J Nat Prod* **59**: 622.

Kuroda, M.; Aoshima, T.; Haraguchi, M., Young, M. C. M.; Sakagami, H. y Mimaki, Y. (2006) Oleanane and taraxerane glycosides from the roots of *Gomphrena macrocephala*. *J. Nat. Prod.* **69** (11) 1606-1611.

Kuroyanagi, M.; Shimomae, M.; Nagashima, Y.; Muto, N.; Okuda, T.; Kawahara, N.; Nakane, T. y Sano, T. (2005) New diarylheptanoids from *Alnus japonica* and their antioxidative activity. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. **53** (12): 1519-1523.

Kvasnica, M.; Sarek, J.; Klinotova, E.; Dzubak, P. y Hajduch, M. (2005) Synthesis of phthalates of betulinic acid and betulin with cytotoxic activity. *Bioorg. Med. Chem.* **13** (10): 3447–3454.

Lambert, J. D. y Yang C. S. (2003) Mechanisms of cancer prevention by tea constituents. *J Nutr* **133**: 3262S-3267S.

Lambertini, E.; Piva, R.; Mahmud T.; Hassan K.; Lampronti, I.; Bianchi, N.; Borgatti, M. y Ambari, R. (2004) Effects of extracts from Bangladeshi medicinal plants on in vitro proliferation of human breast cancer lines and expression of estrogen receptor a gene. *Int J Oncology* **24**: 419-423.

Lara, O. F. y Marquez, A. C. (1996) Plantas Medicinales de México. Composición, usos y actividad biológica, UNAM, México, p. 37-38.

Lee, W. B.; Kwon, H. C.; Cho, O. R.; Lee, K. C.; Choi, S. U.; Baek, N. I. y Lee, K. R. (2002) Phytochemical constituents of *Cirsium setidens* Nakai and their cytotoxicity against human cancer cell lines. *Arch Pharm Res.* **25** (5): 628-635.

Lee, C. J.; Lee, S. S.; Chen, S. C.; Ho, F. M. y Lin, W. W. (2005) Oregonin inhibits lipopolysaccharide-induced iNOS gene transcription and upregulates HO-1 expression in macrophages and microglia. *Br J Pharmacol* **146** (3): 378-388.

Liang Y. C.; Lin-Shiau, S. Y.; Chen, C. F. y Lin, J. K. (1997) Suppression of extracellular signals and cell proliferation through EGF receptor binding by epigallocatechin-3-gallate in human A431 epidermoid carcinoma cells. *J Cell Biochem* **67**: 55-65.

Little E. (1948) El chilcague (*Heliopsis longipes*). Planta insecticida. *Bol Soc Bot Mex* **7**: 23-27.

Liu, S.; Luo, X.; Li, D.; Zhang, J.; Qiu, D.; Liu, W.; She, L. y Yang, Z. (2006) Tumor inhibition and improved immunity in mice treated with flavone from *Cirsium japonicum* DC *Int Immunopharm* **6** (9): 1387-1393.

Loizzo, M. R.; Statti, G. A.; Tundis, R.; Conforti, F.; Ando, S. y Menichini, F. (2004) Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Cirsium tenoreanum*. *Fitoterapia.* **75** (6): 577-580.

McCutcheon, A. R.; Roberts, T. E.; Gibbons, E.; Ellis, S. M.; Babiuk, L. A.; Hancock, R. E. y Towers, G. H. (1995) Antiviral screening of British Columbian medicinal plants. *J Ethnopharm* **49** (2): 101-110.

Martínez-Vázquez, M.; Ramírez, A. T. O.; Lastra, A. L. y Bye, R. (1998) A comparative study of the analgesic and anti-inflammatory activities of pectolinarin isolated from *Cirsium subcoriaceum* and linarin isolated from *Buddleia cordata*. *Planta Med* **64** (2): 134-137.

Márquez, A. C.; F. Lara O.; B. Esquivel, R. y Mata E. R. (1999) *Plantas medicinales de México II. Composición, usos y actividad biológica*. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Martínez, M. (1979) *Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas*. Fondo de Cultura Económica, México.

- Martínez, M (1994). *Las Plantas Medicinales de México*. Ed. Botas, México.
- Martínez, R. M. J. (2002) *Prueba de viabilidad en neutrófilos para la detección de sustancias tóxicas en extractos de plantas como fuente de alimentos en los animales*. Tesis de maestría Universidad de Colima
- Matsunaga, H.; Katano, M.; Yamamoto, H.; Mori, M. y Takata, K. (1989) Studies on the Panaxytriol of *Panax ginseng* C. A. MEYER. Isolation, Determination and Antitumor Activity. *Chem Pharm Bull* **37**: 1279-1281.
- Matsuzaki, P.; Akisue, G.; Oloris, S. C. S.; Gorniak, S. L.; Dagli, M. L. Z. (2003) Effect of *Pfaffia paniculata* (Brazilian ginseng) on the Ehrlich tumor in its ascitic form. *Life Sciences* **74** (5): 573-579.
- Masuda, M.; Suzui M. y Weinstein I. B. (2001) Effects of epigallocatechin-3-gallate on growth, epidermal growth factor receptor signaling pathways, gene expression and chemosensitivity in human head and neck squamous cell carcinoma cell lines. *Clin Cancer Res* **7**: 4220–4229.
- Molina-Torres, J.; García-Chávez, A. y Ramírez-Chávez, D. (1999). Antimicrobial properties of allcamides present in flavouring plants traditionally used in Mesoamerica: affinin and capsaicin. *J. Ethnopharmacol* **64**: 241.
- Molina Torres, J. y García Chávez, A. (2001) Alcamidas en plantas: distribución e importancia Unidad Irapuato: vigésimo aniversario *Avance y Perspectiva* **20**: 377-387.
- Molina-Torres, J.; Salazar-Cabrera, C. J.; Armenta-Salinas, C. y Ramirez-Chavez, E. (2004). Fungistatic and bacteriostatic activities of alkamides from *Heliopsis longipes* roots: affinin and reduced amides *J Agric Food Chem* **52** (15): 4700-4704.
- Molina, M.; Contreras, C. M.; Tellez-Alcantara, P. y Rodriguez, F. (1999) Sedative actions of *Ternstroemia sylvatica* in the male rat. *Phytomedicine*. **6** (2): 115-118.
- Morikawa, T.; Nakamura, S.; Kato, Y.; Muraoka, O.; Matsuda, H. y Yoshikawa, M. (2007) Bioactive saponins and glycosides. XXVIII. New triterpene saponins, foliatheasaponins I, II, III, IV, and V, from Tencha (the leaves of *Camellia sinensis*). *Chem Pharm Bull (Tokyo)* **55** (2): 293-298.
- Morre, D. M. y Morre, D. J. (2006) Catechin-vanilloid synergies with potential clinical applications in cancer. *Rejuvenation Res*. Spring; **9** (1): 45-55.

Mukherjee, R.; Jaggi, M.; Rajendran, P.; Srivastava, S. K.; Siddiqui, M. J. A.; Vardhan, A. y Burman, A. C. (2004) Synthesis of 3-O-acyl/3-benzylidene/3-hydrazone/3-hydrazine/17-carboxyacryloyl ester derivatives of betulinic acid as anti-angiogenic agents. *Bioorg Med Chem Lett* **14** (12): 3169–3172.

Mukherjee, R.; Jaggi, M.; Rajendran, P.; Siddiqui, M. J. A.; Srivastava, S.; Vardhan, A. y Burman, A. C. (2004) Betulinic acid and its derivatives as anti-angiogenic agents *Bioorg. Med. Chem. Lett* **14** (9): 2181–2184.

Nam, S.; Smith, D. M. y Dou, Q. P. (2001) Ester bond-containing tea polyphenols potently inhibit proteasome activity *in vitro* and *in vivo*. *J Biol Chem* **276**: 13322–13330.

Navarro García, V. M.; Rojas, G.; Zepeda, L. G.; Aviles, M.; Fuentes, M.; Herrera, A. y Jiménez, E. (2006) Antifungal and Antibacterial Activity of Four Selected Mexican Medicinal Plants. *Pharm Biol* **44** (4): 297-300.

Nazaruk, J. y Jakoniuk, P. (2005) Flavonoid composition and antimicrobial activity of *Cirsium rivulare* (Jacq.) All. Flowers. *J Ethnopharm* **102** (2): 208-212.

Nencini, C.; Cavallo, F.; Bruni, G.; Capasso, A.; De Feo, V.; De Martino, L.; Giorgi, G. y Micheli, L. (2006) Affinity of *Iresine herbstii* and *Brugmansia arborea* extracts on different cerebral receptors. : *J Ethnopharm* **105** (3): 352-357.

Nevin, K. G. y Vijayammal, P. L. (2003) Effect of *Aerva lanata* on solid tumor induced by DLA cells in mice. *Fitoterapia* **74** (6): 578-582.

Ospina, N. L. S.; Olarte, C. J. y Núñez, O. E. (1986). Estudio fitofarmacológico de la fracción liposoluble de las flores de *Spilanthes Americana*. var *mutis*. Parte 1. Estudio fotoquímico. *Rev Colombiana Ciencias Químico-Farmacéuticas* **15**: 37-42.

Pagno, T.; Blind, L. Z.; Biavatti, M. W. y Kreuger, M. R. (2006) Cytotoxic activity of the dichloromethane fraction from *Vernonia scorpioides* (Lam.) Pers. (Asteraceae) against Ehrlich's tumor cells in mice. *Braz J Med Biol Res* **39** (11):1483-1491.

Park, J. C.; Hur, J. M.; Park, J. G.; Kim, S. C.; Park, J. R.; Choi, S. H. y Choi, J. W. (2004) Effects of methanol extract of *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* and its principle, hispidulin-7-O-neohesperidoside on hepatic alcohol-metabolizing enzymes and lipid peroxidation in ethanol-treated rats. *Phytother Res*.**18** (1): 19-24.

---

Parmar, V. S.; Jain, S. C.; Bisht, K. S.; Jain, R.; Taneja, P.; Jha, A.; Tyagi, O. D.; Prasad, A. K.; Wengel, J.; Olsen, C. E. y Bool, P. M. (1997). Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry* **46**: 597-673.

PCT Int. Appl., 2004072092 (2004).

Pérez-Gil, R. M.; Ramírez, E. y Vargas, R. (2001) Effect of *Cirsium pascuarens* on blood glucose levels of normoglycaemic and alloxan-diabetic mice. *Phytother Res.* **15** (6): 552-554.

Pérez-Gil, R. M.; Ávila, C. A.; Edgill, L. R.; Colon L.; Quesada, Y.; Bello, G. J. L. y Panfet, C. (2005) Actividad antitumoral de una mezcla de polisacáridos obtenida de la especie *Argemone mexicana* L. *Rev Cubana Plant Med* **10** (3-4)

Pinello, K. C.; Fonseca, E. S.; Akisue, G.; Silva, A. P.; Salgado, O. S. C.; Sakai, M.; Matsuzaki, P.; Nagamine, M. K.; Palermo-Neto, J.; Dagli, M. L. (2006). Effects of *Pfaffia paniculata* (Brazilian ginseng) extract on macrophage activity. *Life Sci* **78** (12): 1287-1292.

Ramírez-Chávez, E.; Lucas-Valdez, G.; Virgen-Calleros, L. y Molina-Torres, J. (2000). Actividad fungicida de afinina y extracto crudo de raíces de *Heliopsis longipes* sobre dos especies de *Sclerotium*. *Agrociencia* **34**: 207-217.

Raisova, M.; Hossini, A. M.; Eberle, J.; Riebeling, C.; Wieder, T.; Sturm, I.; Daniel, P. T.; Orfanos, C. E. y Geilen, C. C. (2001) The Bax/Bcl-2 ratio determines the susceptibility of human melanoma cells to CD95/Fas-mediated apoptosis. *J Invest Dermatol* **117**: 333–340.

Rios, Y. M. y Álvarez, B. L. (2005) <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C assignments of three new drimenes from *Iresine diffusa* Humb. & Bonpl. ex Willd. *Magn. Reson. Chem.* **43**: 339–342

Roark, R.C. (1951). Scabrin. *Soaps Sanitary Chem* **27**: 125-137.

Rojas Alba, M. (1998) *Etiología Nahuatl y usos de las plantas medicinales en Xoxocotla, Mor.Mx.*, Tlahui.



---

Roomi, M. W.; Ivanov, V.; Kalinovsky, T.; Niedzwiecki, A. y Rath, M. (2006) *In vivo* and *in vitro* antitumor effect of a unique nutrient mixture on lung cancer cell line A-549. *Exp Lung Res* **32** (9): 441-453.

Roomi, M. W.; Roomi, N.; Ivanov, V.; Kalinovsky, T.; Niedzwiecki, A. y Rath, M. (2006) Inhibition of pulmonary metastasis of melanoma b16fo cells in C57BL/6 mice by a nutrient mixture consisting of ascorbic Acid, lysine, proline, arginine, and green tea extract. *Exp Lung Res* **32** (10): 517-530.

Ruggiero, P; Rossi, G, Tombola, F, Pancotto, L, Lauretti, L, Del Giudice, G, Zoratti, M (2007) Red wine and green tea reduce *H pylori* - or VacA-induced gastritis in a mouse model *World J Gastroenterol* **13** (3): 349-354

Russ. Pat., 2,184,772 (2002).

Rzedowski, J. (1986). Vegetación de México. Ed. Limusa., 3ª ed., México, 431 p.

Rzedowski, J y Calderon de Rzedowski, G (1995) Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes Fas.32.

Rzedowski, G. C. y Rzedowski J. (2001) *Flora fanerogámica del Valle de México*. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro, Michoacán, México.

Rzeski, W.; Stepulak, A.; Szymanski, M.; Sifringer, M.; Kaczor, J.; Wejksza, K.; Zdzisinska, B. y Kandefer-Szerszen, M. (2006) Betulinic acid decreases expression of bcl-2 and cyclin D1, inhibits proliferation, migration and induces apoptosis in cancer cells. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **374** (1): 11-20.

Salama, A. M.; Gallego, M.; Barrera, C. y Spinel, E. (1988) Composición química y actividad abortiva de las hojas de *Agnus acuminata*. *Rev. Col. Cienc. Quim. Farm.*, **15**, 51

Salama, A. M. y Avendaño, I. E. (2005) Actividad anti-inflamatoria de  $\delta$ -amirona y 4',7-dimetoxiapigenina aislados de *Alnus acuminata*. *Rev. Col. Cienc. Quim. Farm.* **34** (2):117-121.

Sanghvi, L.M.; Misra, N. y Bose, T. K. (1960) Cardiovascular Manifestations in *Argemone mexicana*. *Poisoning (Epidemic Dropsy) Circulation* **XXI**: 1096-1106.

Scotti, M. T.; Fernández, M. B.; Ferreira, M. J. y Emerenciano, V. P. (2007) Quantitative structure-activity relationship of sesquiterpene lactones with cytotoxic activity. *Bioorg Med Chem* **15** (8): 2927-2934.

Shentsova, E. B.; Anisimov, M. M.; Samoshina, N. F.; Denisenko, M. V. y Uvarova, N. I. (2005) Structural-functional properties of triterpenoids of lupane series. 3. Cytotoxic activity of betulin, dihydrobetulin and their derivatives on Ehrlich carcinoma *in vitro*. *Rastit Resur* **41**: 116–122.

Shin, M. H.; Wang, W.; Nam, K. I.; Jo, Y.; Jung, J. H. e Im, K. S. (2003) Triterpenoid saponins from the fruits of *Ternstroemia japonica*. *J Nat Prod* **66** (10): 1351-1355.

Singh, K.; Singh, M. J. y Das, J. C. (2006) Visual field defects in epidemic dropsy. *Clin Toxicol (Phila)* **44** (2): 159-163.

Srinivasan, P.; Sabitha, K. E. y Shyamaladevi, C. S. (2007) Attenuation of 4-nitroquinoline 1-oxide induced *in vitro* lipid peroxidation by green tea polyphenols. *Life Sci* **80** (12): 1080-1086.

Symon, A. V.; Veselova, N. N.; Kaplun, A. P.; Vlasenkova, N. K.; Fedorova, G. A.; Lyutik, A. I.; Gerasimova, G. K. y Shvets, V. I. (2005) Synthesis and Antitumor Activity of Cyclopropane Derivatives of Betulinic and Betulonic Acids. *Russ J Bioorg Chem* **31** (3): 286–291.

Thangapazham, R. L.; Singh, A. K.; Sharma, A.; Warren, J.; Gaddipati, J. P. y Maheshwari, R. K. (2007) Green tea polyphenols and its constituent epigallocatechin gallate inhibits proliferation of human breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Lett.* **245** (1-2): 232-241.

Urban, M.; Sarek, J.; Klinot, J.; Korinkova, G. y Hajduch, M. (2004) Synthesis of A-Seco Derivatives of Betulinic Acid with Cytotoxic Activity. *J Nat Prod* **67** (7): 1100–1105.

Urech, K.; Scher, K. J.; Hostanska, K. y Becker, H. (2005) Apoptosis inducing activity of viscin, a lipophilic extract from *Viscum album* L. *J. Pharm.Pharmacol.* **57** (1): 101.

US Pat., 5,523,769 (1996).

Venkman, K. y Futerman, A. H. (2000) Ceramide as a second messenger: sticky solutions to sticky problems. *Trends Cell Biol* **10** (10): 408-412.

Verma, S. K.; Dev, G.; Tyagi, A. K.; Goomber, S. y Jain, G. V. (2001) *Argemone mexicana* poisoning: autopsy findings of two cases. *Forensic Sci Int* **115** (1-2): 135-141.

Vial, T.; Bernard, G.; Lewden, B.; Dumortier, J. y Descotes, J. (2003) Acute hepatitis due to Exolise, a *Camellia sinensis*-derived drug. *Gastroenterol Clin Biol* **27** (12): 1166-1167.

Vibrans H. (2006) Malezas de México, (27/03/08).  
[www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/amaranthaceae/iresine-diffusa](http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/amaranthaceae/iresine-diffusa).

Villaseñor, R. J. L. y Espinosa, G. F. J. (1998) Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México, Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario y Fondo de Cultura Económica, México.

Willcox, M. L.; Graz, B.; Falquet, J.; Sidibé, O.; Forster, M. y Diallo, D (2007) *Argemone mexicana* decoction for the treatment of uncomplicated falciparum malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **101** (12): 1190-1198.

Wollenweber, E. (1976) Pure methoxy flavanoids from buds of *Betula nigra*. *Phytochem* **15**: 438.

Yamazaki, M.; Hirakura, K.; Miyaichi, Y.; Imakura, K.; Kita, M.; Chiba, K. y Mohri, T. (2001) Effect of polyacetylenes on the neurite outgrowth of neuronal culture cells and scopolamine-induced memory impairment in mice. *Biol Pharm Bul.* **24** (12): 1434-1436.

Yang, C. S.; Maliakal P. y Meng, X. (2002) Inhibition of carcinogenesis by tea. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **42**: 25–54.

Yang, F.; Oz, H. S.; Barve, S.; Villiers, W. J.; McClain, C. J. y Varilek, G. W. (2001) The green tea polyphenol-epigallocatechin-3-gallate blocks nuclear factor-kappa B activation by inhibiting I kappa B kinase activity in the intestinal epithelial cell line IEC-6. *Mol Pharmacol* **60**: 528–533.

Yogeeswari, P. y Sriram, D. (2005) Betulinic acid and its derivatives: a review on their biological properties. *Curr. Med. Chem.* **12**, 657–666.

You, Y. J.; Kim, Y.; Nam, N. H. y Ahn, B. Z. (2003) Synthesis and cytotoxic activity of a-ring modified betulinic acid derivatives. *Bioorg. Med. Chem.Lett.* **13** (16): 3137–3140.

Zahir, A.; Jossang, A.; Bodo, B.; Provost, J.; Cosson, J. P. y Sevénet, T. (1996) DNA Topoisomerase 1 inhibitors: Cytotoxic flavones from *Lethedon tannaensis*. *J Nat Prod* **59**: 701.

Zinoveva, S. V.; Udalova, Z. V.; Vasileva, L. S.; Vanyushkin, S. A. y Paseshnichenko, V. A. (2001) Role of Isoprenoids in Plant Adaptation to Biogenic Stress Induced by Parasitic Nematodes. *Appl. Biochem. Microbiol* **37**(5): 456–462.

**Páginas web consultadas:**

[www.arboles.org.mx](http://www.arboles.org.mx) (5/VII/07).

[www.conabio.gob.mx/conocimiento/info\\_especies/arboles/doctos/9-betul1m.pdf](http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/9-betul1m.pdf)

[www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/papaveraceae/argemone-ochroleuca/fichas/ficha.htm#1.%20Nombres](http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/papaveraceae/argemone-ochroleuca/fichas/ficha.htm#1.%20Nombres) (12/12/07)

[www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/polemoniaceae/loeselia-mexicana/fichas/pagina1.htm](http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/polemoniaceae/loeselia-mexicana/fichas/pagina1.htm) (12/12/07)

[www.conabioweb.conabio.gob.mx/bancoimagenes/doctos/001\\_thumbs421-206.htm](http://www.conabioweb.conabio.gob.mx/bancoimagenes/doctos/001_thumbs421-206.htm)

[http://conabioweb.conabio.gob.mx/bancoimagenes/doctos/001\\_thumbs421-206.htm](http://conabioweb.conabio.gob.mx/bancoimagenes/doctos/001_thumbs421-206.htm)

[www.conacyt.mx/comunicacion/revista/205/Articulos/Alcamidas/Alcamidas03.htm](http://www.conacyt.mx/comunicacion/revista/205/Articulos/Alcamidas/Alcamidas03.htm) (4/II/08)

[http://siit.conabio.gob.mx/pls/itisca/next?v\\_tsn=184176&taxa=&p\\_format=&p\\_ifx=itismx&p\\_lang=es](http://siit.conabio.gob.mx/pls/itisca/next?v_tsn=184176&taxa=&p_format=&p_ifx=itismx&p_lang=es)

[www.cloudbridge.org/plantation/plantation-es.htm](http://www.cloudbridge.org/plantation/plantation-es.htm) (4/III/06)

[www.dsalud.com/numero71\\_1.htm](http://www.dsalud.com/numero71_1.htm) (14/V/07)

[www.efloras.org/object\\_page.aspx?object\\_id=41003&flora\\_id=1](http://www.efloras.org/object_page.aspx?object_id=41003&flora_id=1) (12/12/07)

[www.ernestartist.org/ArgemoneMexicana01.htm](http://www.ernestartist.org/ArgemoneMexicana01.htm) (5/VI/08)

[www.eswikipedia.org](http://www.eswikipedia.org)

[www.genome.ad.jp/dbget-bin/www\\_bget?compound+C06162+-s](http://www.genome.ad.jp/dbget-bin/www_bget?compound+C06162+-s) (9/VI/07)

[www.herbaria.plants.ox.ac.uk/adc/downloads/capitulos\\_especies\\_y\\_anexos/alnus\\_acuminata](http://www.herbaria.plants.ox.ac.uk/adc/downloads/capitulos_especies_y_anexos/alnus_acuminata).

[www.itmonline.org/arts/berberine.htm](http://www.itmonline.org/arts/berberine.htm) (9/VI/07)

[www.hipernatural.com/es/pltcardo\\_santo.html](http://www.hipernatural.com/es/pltcardo_santo.html)

[www.mailxmal.com](http://www.mailxmal.com) (9/VI/07)

<http://www.um.es/qcba/alcaloi/alcalo.ppt> (9/VI/07)

[www.ukrain-drug.net](http://www.ukrain-drug.net) (12/!2/07)