



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

“Determinación de la actividad antiinflamatoria  
y citotóxica de extractos de *Stenocereus  
zopilotensis*”

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE  
**BIOLOGO**

PRESENTA  
Luis Efraín Guadarrama Chagoya

Director: Dr. Mariano Martínez Vázquez

Nov/09



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

“ZARAGOZA”

DIRECCIÓN

JEFE DE LA UNIDAD DE  
ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
P R E S E N T E.

Comunico a usted que el alumno **GUADARRAMA CHAGOYA LUIS EFRAÍN**, con número de cuenta **403015164** de la carrera de Biología se le ha fijado el día **17** del mes de **NOVIEMBRE** de 2009 a las **10:00 hrs.** para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

- |                   |   |  |
|-------------------|---|--|
| <b>PRESIDENTE</b> | DRA. F. LEONORA SÁNCHEZ GARCÍA FIGUEROA |  |
| <b>VOCAL</b>      | DR. MARIANO MARTÍNEZ VÁZQUEZ*           |  |
| <b>SECRETARIO</b> | DRA. HORTENSIA ROSAS ACEVEDO            |  |
| <b>SUPLENTE</b>   | M. en C. ROSALVA RANGEL CORONA          |  |
| <b>SUPLENTE</b>   | DR. EDELMIRO SANTIAGO OSORIO            |  |

El título de la tesis que presenta es: **Determinación de la actividad antiinflamatoria y citotóxica de extractos de *Stenocereus zopilotensis*.**

Agradeceré por anticipado su aceptación y hago propia la ocasión para saludarle.

**ATENTAMENTE**  
**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**  
 México, D. F., a 20 de octubre de 2009

**C.D. ALFREDO SALVADOR SÁNCHEZ FIGUEROA**  
**DIRECTOR**

RECIBI  
 OFICINA DE EXAMENES  
 PROFESIONALES Y DE GRADO

VO. BO  
 M. en C. CARLOS PÉREZ MALVÁEZ  
 JEFE DE CARRERA

## **AGRADECIMIENTOS**

Por su colaboración y sus consejos a la Dra. Leonora Sánchez García, a la M. en C. Rosalva Rangel Corona, al Dr. Edelmiro y en especial a la Dra. Hortensia Rosas Acevedo y al Dr. Mariano Martínez Vázquez.

A mis tíos CATALINA GUADARRAMA y RAMÓN GONZÁLEZ, a TODA MI FAMILIA y a CARMINA, por su apoyo.

A mis amigos en especial al “escuadron de la muerte”

## **DEDICATORIAS**

A mi madre JUANA GUADARRAMA CHAGOYA.

A mi hijo RAMÓN EDUARDO GUADARRAMA DIEZ.

## INDICE

<b>Resumen</b>	1
<b>Introducción</b>	2
<b>1. Inflamación</b>	2
1.1 Inflamación aguda y crónica	2
<b>2. Cáncer</b>	3
2.1 Definición	3
2.2 Inflamación y cáncer	4
2.3 El cáncer como problema de salud pública	4
2.4 Tratamiento del cáncer	5
2.4.1 Quimioterapia	5
2.5 Plantas medicinales en México	7
2.6 Principios activos de origen natural	7
2.7 Triterpenos como posibles agentes anticancerosos potenciales	12
<b>3. Metabolitos Secundarios</b>	19
3.1 Característica de los metabolitos secundarios	19
3.2 Clases de metabolitos secundarios	20
3.3 Clasificación biosintética de los metabolitos secundarios	21
3.4 Terpenoides	21
<b>4. Familia Cactáceae</b>	22
4.1 Subfamilias	22
4.2 Géneros	22
4.3 Genero <i>Stenocereus</i>	23
4.4 Clasificación taxonómica de <i>Stenocereus zopilotensis</i>	24
4.5 Características taxonómicas de <i>Stenocereus zopilotensis</i>	25
4.6 Química del genero <i>Stenocereus</i>	26
<b>5. Justificación</b>	29
<b>6. Hipótesis</b>	29
<b>7. Objetivos</b>	30
7.1 Objetivo general	30
7.2 Objetivos particulares	30
<b>8. Materiales y métodos</b>	30
8.1 Estrategia de trabajo	31
8.2 Recolecta del Material Vegetal	32
8.3 Obtención de los extractos	32
8.4 Fraccionamiento de los extractos orgánico	32
8.5 Purificación de los compuestos	32
8.6 La identificación de los compuestos	33
8.7 evaluación de la actividad citotóxica	33
8.8 Evaluación de la actividad antiinflamatoria	35
<b>9. Resultados</b>	35

9.1 Obtención de extractos orgánicos de <i>S. zopilotensis</i>	35
9.2 Evaluación de las actividad citotóxica y antiinflamatoria de los extractos orgánicos de <i>S. zopilotensis</i>	36
9.3 Fraccionamiento de los extractos orgánicos	37
9.4 Evaluación de las actividad citotóxica y antiinflamatoria de algunas fracciones de los extractos orgánicos de <i>S. zopilotensis</i>	38
<b>10. Identificación de compuestos</b>	39
10.1 Identificación del Peniocerol	39
10.2 Ester del 3-O-D-glucuronopiranosil 28-O-β-glucopiranosil(1→4)α-L-ramnopiranosil Ácido oleanólico	40
10.3 Identificación del Ácido oleanólico	42
<b>11. Discusión</b>	41
<b>12. Conclusiones</b>	44
<b>13 Literatura citada</b>	46

## Abreviaturas

Ac	Ácido	HCl	Ácido Clorhídrico
ADN	Ácido desoxirribonucleico	HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
AcOEt	Acetato de etilo	IR	Infrarrojo
°C	Grados Celsius	KBr	Bromuro de potasio
C <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato cérico	MeOH	Metanol
CC	Cromatografía columna	mm	Milímetros
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Diclorometano	nm	Nanómetros
CH <sub>3</sub> Cl	Cloroformol	MS	Metabolitos secundarios
CCF	Cromatografía Capa Fina	N	Normal
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono	NaOH	Hidróxido de sodio
$\bar{C}_r$	Media del peso de la muestra tratada con TPA	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato de sodio anhidro
$\bar{C}_t$	Media del peso de la muestra tratada con TPA y el compuesto	NCI	<i>National Cancer Institute</i>
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>	NF-κB	Factor Nuclear- κB
DMSO	Dimetilsulfoxido	SFB	Suero fetal bobino
DMBA	7,12-dimetilbenz(a)antraceno	SRB	Sulforrodamina B
EDTA	Ácido etilen diamino tetraacético	RPMI	Roswell Park Memorial Institute
EUA	Estados Unidos de América	RMN-C <sup>13</sup>	Resonancia magnética nuclear de carbono-13
GPT	Guanosín trifosfato	RMNH	Resonancia magnética nuclear de hidrogeno
h	horas	TPA	13-acetato-12-O-decanoilforbol
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido sulfúrico	UV	Ultra violeta

## Resumen

La inflamación es un mecanismo de defensa del organismo, se presenta como respuesta a estímulos de diversa naturaleza, se caracteriza por dolor, enrojecimiento e hinchazón, por otra parte el cáncer es una de las enfermedades con mayor impacto en las últimas décadas; en México es la segunda causa de muerte. Actualmente se sabe que la inflamación crónica esta involucrada en varios pasos que de la tumorigenesis, incluyendo la transformación celular, promoción, sobrevivencia, proliferación, invasión angiogenesis y metastasis. Para el tratamiento del cáncer se utilizan un gran número de terapias como quimioterapia, radioterapia, quirúrgicos, entres otros. Una de las fuentes de principios activos más importantes dentro de la farmacéutica son los metabolitos secundarios producidos por las plantas y animales.

La familia Cactaceae es una de las más importantes en México dentro de esta se encuentra el género *Stenocereus* del cual se han aislado triterpenos; los cuales poseen propiedades antiinflamatorias y citotóxicas. Por lo anterior en esta investigación se realizó es estudio fitoquímico y la evaluación de la actividad antiinflamatoria y citotóxica de extractos orgánicos y de algunos metabolitos aislados de *Stenocereus zopilotensis*.

De los extractos orgánicos de *S. Zopilotensis* se aislaron tres compuestos, los cuales fueron identificados como peniocerol, Ester del 3-O-D-glucopiranosil 28-O-β-glucopiranosil(1→4)α-L-ramnopiranosil acido oleanólico y ácido oleanólico”

Por otra parte, tanto el extracto de las partes aéreas (SZPAM) y el de las raíces (SZR) mostraron actividad antiinflamatoria así como actividad citotóxica moderada en 5 líneas de cáncer humano.

De acuerdo con los resultados del estudio químico de *S. zopilotensis* podemos concluir que esta especie sintetiza principalmente triterpenos y glicósidos al igual que otras especies del mismo género. El peniocerol se aísla por primera vez en una especie del género *Stenocereus*, así mismo cabe señalar que el Ester del 3-O-D-glucopiranosil 28-O-β-glucopiranosil(1→4)α-L-ramnopiranosil acido oleanólico constituye una nueva molécula que se aísla por primera vez de una fuente natural.

## **Introducción.**

### **1. Inflamación.**

La inflamación forma parte de los mecanismos de defensa del organismo, como respuesta a estímulos de naturaleza diversa. Entre los que se cuentan, los traumatismos mecánicos, el contacto a productos químicos, las lesiones provocadas por procesos isquémicos así como los procesos patológicos provocados por microorganismos como virus y bacterias y los autoinmunes.

La inflamación se localiza generalmente en el tejido conectivo, en donde ocurre la degeneración de las paredes de los vasos sanguíneos y se produce un incremento en la permeabilidad. Estos eventos conducen a una extensa salida de plasma y células, que penetran en el espacio intersticial y emigran hacia la zona dañada.

A nivel macroscópico, el proceso se manifiesta por la presencia de eritema, edema, calor o dolor. Estas expresiones clínicas fueron señaladas como los signos cardinales de la inflamación por Celso en siglo I d. C. Posteriormente en el siglo XIX Virchow adicionó la pérdida de la función tisular (Nathan, 2002).

#### **1.1 Inflamación aguda y crónica**

El proceso de inflamación puede ser agudo o crónico. La inflamación aguda se caracteriza por ser inmediata y de corta duración. Por otro lado, la inflamación crónica es de mayor duración y se caracteriza por una sintomatología del proceso inflamatorio poco evidente. (Espinosa *et al*; 2004).

La inflamación aguda contribuye con la neutralización de infecciones locales y la promoción de la acción del sistema inmune. La respuesta aguda es controlada por mediadores celulares y moleculares. Los componentes celulares incluyen células endoteliales, eosinófilos, neutrófilos, monocitos-macrófagos, mastocitos-basófilos, linfocitos y plaquetas.

La inflamación crónica es una respuesta prolongada con evidentes signos de inflamación activa y notable destrucción tisular. Situación patológica donde de manera simultánea y descontrolada funcionan los mecanismos de aislamiento, destrucción y eliminación xenobiótica así como la reparación del tejido dañado.

La evolución persistente e incontrolada de la inflamación constituye el origen de una variedad de enfermedades, como reumatismo, asma, esclerosis múltiple, arterosclerosis, osteoporosis, cáncer y otras. Por lo tanto, la regulación de los mecanismos celulares y moleculares de la inflamación resulta

de gran interés terapéutico (Nathan, 2002). Los mediadores de la inflamación crónica comprenden las proteasas plasmáticas, así como algunos mediadores lipídicos como las prostaglandinas, los leucotrienos y el factor activador de las plaquetas. También participan varios neuropéptidos, aminas vaso activas, especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno así como algunas citocinas (Espinós *et al*; 2004).

## **2. Cáncer.**

### **2.1 Definición.**

Una de las maneras más fáciles de definir a este padecimiento es la propuesta por la Sociedad Americana de Cáncer (American Cancer Society), la cual enuncia que el cáncer es un grupo de enfermedades caracterizadas por un crecimiento descontrolado de células que no responden a los controles de crecimiento y diferenciación las cuales se dispersan a través de todo el organismo.

Así, se puede entender al cáncer como un proceso de crecimiento tisular producido por la proliferación continua de células con capacidad de invasión y destrucción de otros tejidos.

El cáncer, que puede originarse a partir de cualquier tipo de célula en cualquier tejido corporal, no es una enfermedad única, sino que en realidad es un conjunto de enfermedades que se clasifican en función del tejido y célula de origen (Gibbs, 2000).

Por otro lado, de acuerdo con Sir Rupert Willis, una neoplasia, es una masa anormal de tejido que no está coordinado por los mecanismos reguladores normales y cuyo crecimiento excede al del tejido normal. Adicionalmente, varios tipos de neoplasias persisten, aunque haya finalizado el estímulo que suscitó su inicio (Cotran y Cols., 1995). De manera formal, una neoplasia no constituye un cáncer hasta que presente metástasis. Las neoplasias malignas tienen la capacidad de sufrir metástasis y formar tumores secundarios.

Una característica del cáncer es la alteración en los mecanismos de control que regulan la proliferación y diferenciación de las células (Katzung, 1999). Dichos cambios son el resultado de anomalías génicas que puede aparecer por la mutación de un grupo específico de genes. De manera natural varios de estos genes actúan suprimiendo o estimulando la continuidad del ciclo celular, y su pérdida o inactivación da lugar a una división celular acelerada (Gibbs, 2000).

## 2.2 Inflamación y cáncer

La percepción de que el proceso de inflamación, puede causar cáncer no es nueva. En 1863 Virchow, hipotetizó, que el origen del cáncer se encuentra en sitios de inflamación crónica, en parte su hipótesis se basó, en que algunas clases de irritantes junto al tejido dañado, da como resultado la inflamación y el aumento de proliferación celular (Aravena, 2007).

La proliferación celular es un proceso rico en células inflamatorias, que hace que aumenten los factores de riesgo, activando el estroma y causando un daño prominente al ADN, ya que estos promueven riesgos de neoplasia (Aravena, 2007).

Se conoce que los procesos infecciosos generalmente generan inflamaciones, muchas veces, crónicas. Hoy en día es conocido que varios tumores tienen un origen infeccioso. Generalmente el patógeno es el responsable de establecer la infección crónica, causando una persistente respuesta inflamatoria. Así por ejemplo, el *Helicobacter pylori* es un factor de riesgo para el cáncer de estomago, o el virus del herpes en cáncer cervical y esquistosomas en cáncer de vejiga. Continuas irritaciones tales como, asbestos, silica y fumar cigarrillos también incrementa la probabilidad de desarrollar cáncer bronquial (Aravena, 2007).

Recientemente se ha señalado el papel que desempeña, en los procesos inflamatorios y cancerosos, el factor de necrosis (NF- $\kappa$ B), una proteína que es activada por estímulos inflamatorios. La activación de este factor de transcripción desencadena la actividad de enzimas como la oxido nítrico sintasa inducible, o la disminución de enzimas pro-apoptóticas bcl2 entre otras, lo que privilegia el aumento y sostenimiento de la inflamación y el surgimiento de neoplasias (Karin, 2006).

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

## 2.3 El cáncer como problema de salud pública.

El cáncer constituye una de las principales causas de muerte de la humanidad. Anualmente son diagnosticadas más de 10 millones de personas con este padecimiento, de las cuales, 6 millones mueren, representando el 12% del las muertes a nivel mundial y se estima que para el 2020 el número de nuevos casos se incrementara en un 50% (Klug y Cummings, 1999). Por lo anterior, el cáncer constituye un problema de salud a nivel mundial ocupando un lugar de especial importancia en los programas de salud pública, asistencia médica, prevención e investigación (Chabner, 2005).

En México, según los registros de la Secretaria de Salud, desde 1990 el cáncer ocupa el segundo lugar como causa de muerte (Sistema Epidemiológico y Estadístico de las Defunciones, 2001). En el año 2002, el cáncer provocó 58,599 defunciones en el país. En el caso de los varones, el número de

fallecimientos por este padecimiento representó 11.2% de las muertes. Mientras que en las mujeres, correspondió al 14.7%. Sin embargo, es alarmante el hecho de que para el grupo de mujeres entre 35 y 64 años de edad, el cáncer constituye la primer causa de muerte a nivel nacional (INEGI, 2005).

## **2.4 El tratamiento del cáncer.**

Por su etiología, se sabe, que el cáncer se desarrolla de manera muy particular en cada paciente. Así para el tratamiento de este padecimiento se debe tomar en cuenta lo anterior, hoy en día, se tratan de establecer terapias individuales en las cuales se combinan los procedimientos quirúrgicos con regímenes de radioterapia y de quimioterapia (Chabner, 2005).

### **2.4.1 Quimioterapia.**

Aunque existen algunos antecedentes históricos que sustentan el empleo de compuestos químicos para tratar este tipo de padecimientos. Por ejemplo, hace aproximadamente 500 años, se utilizaron algunas preparaciones de plata, zinc y mercurio o la llamada solución de Fowler (arsenito de potasio) que Lissauer, en 1865, la utilizó para tratar a un paciente con leucemia (Parra 2005). Sin embargo, la quimioterapia moderna inicio en la década de los años de 1940. Los resultados de las autopsias de las víctimas de los gases mostazas, armas químicas utilizadas en la segunda guerra mundial, indicaron que la mayoría presentaban una hipoplasia linfoide generalizada así como mielosupresión.

En 1942 L. Goodman y A. Gilman fueron reclutados por el departamento de defensa de los Estados Unidos con el fin de evaluar el potencial terapéutico de esta serie de toxinas desarrolladas para la guerra química. Así, tomando en cuenta los datos obtenidos por las autopsias, Goodman y Gilman propusieron que en dosis bajas, de un agente similar podría causar una regresión de un tumor linfático. Después de evaluaciones exitosas en ratones, el cirujano G. Lindskog trato a un paciente que sufría de un linfoma del tipo no-Hodgkin con la mecloroetamina, una mostaza nitrogenada. No obstante, que se produjo una remisión del tumor por algunas semanas, este continuó su crecimiento hasta la muerte del paciente. A pesar de este resultado, se estableció por primera vez que la administración sistemática de algunos fármacos puede inducir la regresión de tumores cancerosos.

Estos derivados nitrogenados se caracterizan por su habilidad alquilante, propiedad que permite su desarrollo para el uso clínico (Chabner, 2005).

En 1955 en los Estados Unidos de América, se autorizó la creación del Centro de Servicio Nacional de la Quimioterapia de Cáncer en el Instituto Nacional del Cáncer. Desde entonces se han aprobado más de 30 fármacos para el uso en el tratamiento de los pacientes con enfermedades malignas

(Chabner, 2005). Algunos de estos fármacos, curan a la mayoría de los pacientes con coriocarcinoma, cáncer testicular, leucemia linfocítica aguda y diversos tipos de linfomas.

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

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

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

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

**Cuadro 1.** Clasificación de agentes antineoplásicos según su mecanismo de acción o su origen (Moore y Goldenberg en Kalant y Roshlau, 1998).

## **2.5 Plantas medicinales en México.**

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

Una larga experiencia le permitió comprobar, en el caso de las plantas, sus propiedades curativas, y a partir de ese momento pudo ir dando forma a lo que hoy se conoce como medicina tradicional (Cragg *et al*; 2005).

Desde tiempos prehispánicos, en México, existe una fuerte tradición en el uso de las plantas con fines terapéuticos, constituyendo un rasgo cultural de la sociedad mexicana. (Martínez, 1996). En el país existen aproximadamente 26,000 especies vegetales y se tienen registradas aproximadamente 5000 especies con atributos medicinales (15% de la flora total). Sin embargo, se considera que en México y el mundo, la validación química farmacológica y biomédica solo se ha llevado a cabo en 5% de las especies medicinales (Bellucci, 2002).

Adicionalmente, México es considerado como un país megadiverso lo cual le confiere un interés muy especial en el aspecto biológico y etnográfico. La diversidad de unidades climáticas que presenta, origina una riqueza de flora, fauna y micología variada. Aunada a esta diversidad, también persiste, en la sociedad, un conocimiento tradicional en sus distintas regiones geográficas por el que prevalecen conceptos, tecnología y formas de vida que contienen conocimientos ancestrales que se manifiestan principalmente en grandes núcleos de la población tanto rural como urbana (Cragg *et al*; 2005).

## **2.6 Principios activos de origen natural.**

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima, que en el año 2008, aproximadamente el 80% de la población mundial utilizó la medicina tradicional en sus cuidados de salud. Adicionalmente, se calcula que los productos naturales representan alrededor del 50% de los fármacos de uso clínico en países desarrollados y de estos el 25% derivan de plantas superiores.

El aislamiento de compuestos anticancerosos de origen natural se ha efectuado a partir de diferentes estrategias. Una de ellas es tomar en cuenta los antecedentes etnomédicos de las especies bajo estudio. Otra es el tamizaje, utilizando una prueba biológica como la citotoxicidad a líneas de cáncer humano, y la evaluación directa de estructuras novedosas.

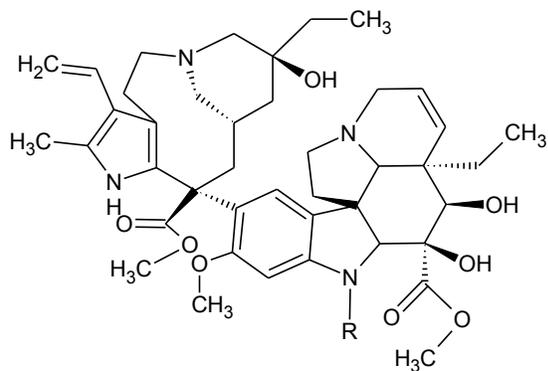
Debido a que en la práctica tradicional es difícil distinguir entre un proceso inflamatorio y un desarrollo

canceroso, la búsqueda de especies con probados antecedentes etnomédicos anticancerosos no es fácil. Sin embargo, en 1982, Hartwell informó de aproximadamente 3000 especies con antecedentes etnomédicos se habían referido como anticancerosas (Harwell, 1982).

En la medicina popular de diversas regiones del mundo se describen las propiedades beneficiosas de la "vinca" (*Vinca rosea* Sin. *Carthantus roseus*), una especie de mirto (Figura 1). Esta especie había sido referida como hipoglucemiante, sin embargo, cuando se estudiaron sus efectos farmacológicos se encontró que provoca granulocitopenia y depresión de la médula ósea de la rata. Investigaciones posteriores demostraron que algunas fracciones de alcaloides de esta planta tenían actividad contra la neoplasia linfocítica murina. El estudio químico permitió el aislamiento de cuatro alcaloides diméricos activos, vinblastina, vincristina, vinleurosina y vinrosina. Los dos primeros, se convirtieron en agentes clínicamente importantes para el tratamiento de leucemias, linfomas y cáncer testicular (Figura 2) (Calabresi y Chabner en Harman et al; 1996; Cragg y Newman, 2005).



**Figura 1.** Flor de *Catharanthus roseus*



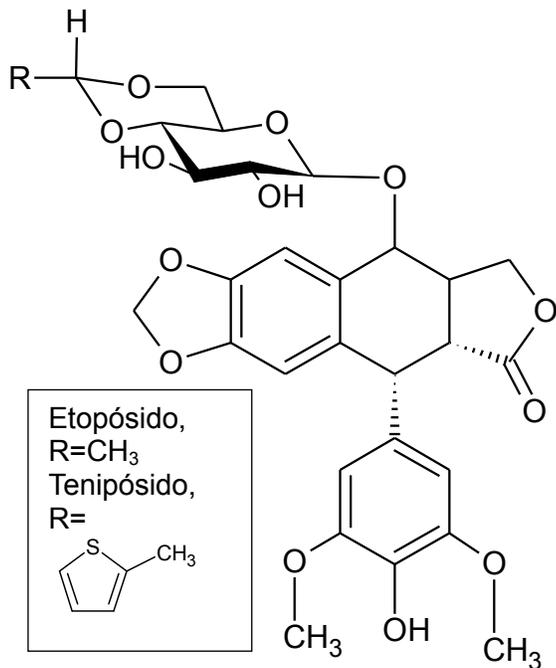
Vinblastina R=CH<sub>3</sub> Vincristina R=CHO  
**Figura 2.** Estructura química de vincristina y vinblastina

Las actividades biológicas de los alcaloides de la vinca se explican por su capacidad de ligarse específicamente a la tubulina y bloquear la facultad de dicha proteína para polimerizarse en microtúbulos. Así, la vinblastina se une a las subunidad  $\beta$  de los dímeros de tubulina a una región denominada "dominio de unión Vinca". La unión de la vinblastina a la tubulina soluble es rápida y reversible. De manera importante, la vinblastina induce cambios conformacionales en la tubulina que hace que esta proteína se autoasocie (Jordan y Wilson, 2004).

Así mismo la vinblastina también se une directamente a microtúbulos disminuyendo la dinámica de los mismos. Como consecuencia se previene la formación del huso mitótico y se reduce la tensión de los cromosomas en la región cinetocótica (Jordan y Wilson, 2004).

La especie *Podophyllum peltatum* (Figura 4) se empleó como remedio popular por los indígenas de América y los primeros colonizadores por sus efectos eméticos, catárticos y antihelmínticos. A partir de esta planta, se aisló la podofilotoxina, partir de la cual se obtuvieron los glucósidos semisintéticos, el etópósido y el tenipósido (Figura 3), los cuales tienen aplicación en el cáncer testicular y el carcinoma de células pequeñas de pulmón (Mann, 2002).

El etópósido y el tenipósido, forman un complejo ternario con la topoisomerasa II y el ADN. La formación de dicho complejo ocasiona rupturas en el ADN que conlleva a la detención del ciclo y posterior muerte celular (Mann, 2002).



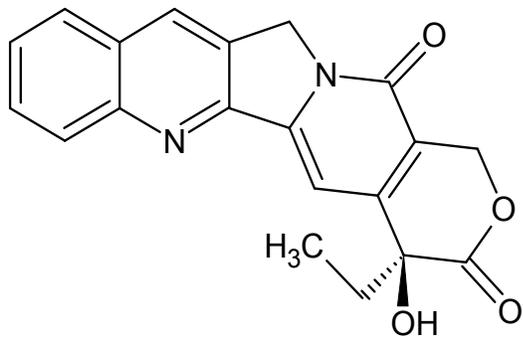
**Figura 3.** Estructuras químicas del tenipósido y etopósido.

**Figura 4.** Flor de *Podophyllum peltatum*.

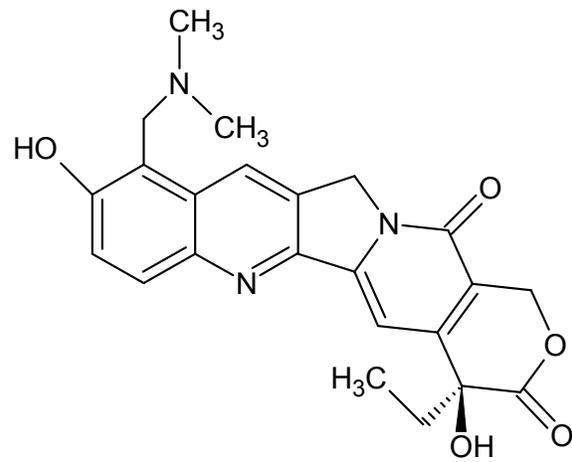
Como resultado de la evaluación de las propiedades citotóxicas de cientos de extractos de especies vegetales por el Instituto Nacional del Cáncer (EUA), en los años sesenta, se logró el descubrimiento de un potente diterpeno nombrado paclitaxel (Newman, 2003). Este compuesto, se aisló a partir de la corteza de árbol milenario conocido como tejo del Pacífico (*Taxus brevifolia*) (Figura 5).

El paclitaxel (Figura 6) estimula la formación de microtúbulos a bajas temperaturas y en ausencia de guanosín trifosfato (GTP). Específicamente, el paclitaxel, se une a las subunidades de  $\beta$ -tubulina de los microtubulina y al parecer antagoniza el desensamble de esta proteína citoesquelética, induciendo estructuras aberrantes de microtúbulos. En consecuencia, el ciclo celular se detiene en la mitosis

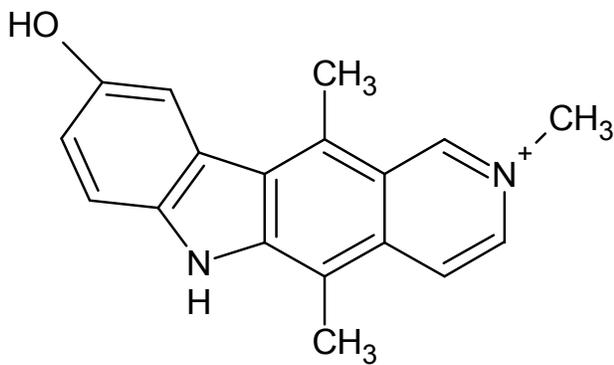




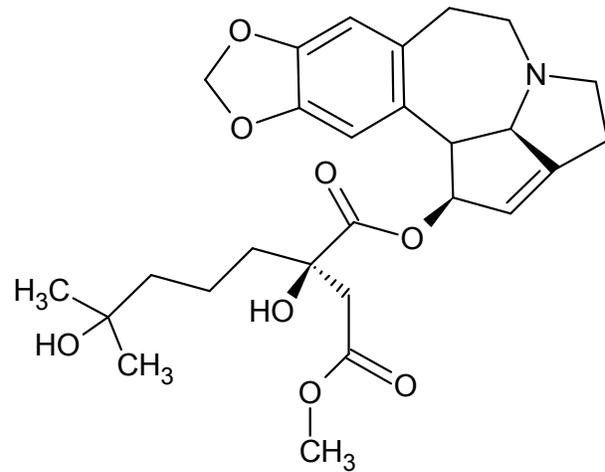
**Camptotecina**



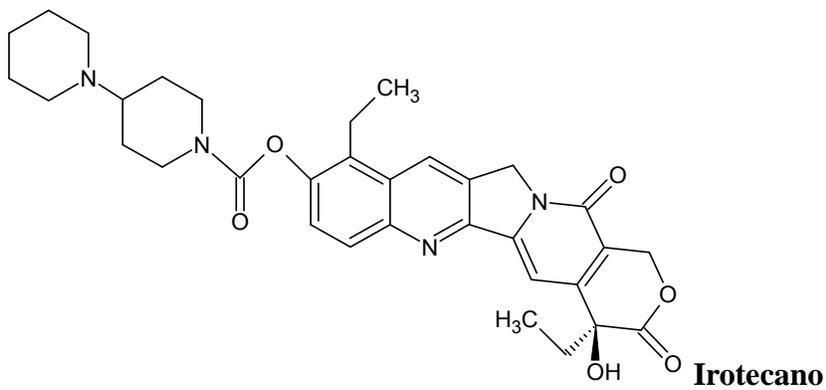
**Topotecano**



**Eliptinium**



**Homoharringtonina**



**Irotectano**

**Figura 7.** Algunos compuestos de origen natural y derivados con importancia clínica en el tratamiento de cáncer.

Aunque los compuestos antes mencionados son los de mayor importancia clínica, existe una gran cantidad de metabolitos estructuralmente diversos, con probada actividad contra líneas celulares de cáncer. Es posible encontrar en cada grupo de metabolitos secundarios algún representante con propiedades anticancerosas. Algunos de estos grupos son las cumarinas, los flavonoides, los sesquiterpenos, los diterpenos y los triterpenos. Los mecanismos de acción, responsables de la actividad citotóxica de estos grupos de compuestos, son diversos (Newman, 2003).

Sin duda, las plantas y microorganismos continúan siendo una fuente invaluable de sustancias bioactivas. Así, en el 2000, se estimó que aproximadamente el 53% de los fármacos en estudios clínicos correspondía a metabolitos secundarios y sus derivados o a compuestos obtenidos a partir de un fármacoforo de un producto natural (Newman, 2003).

## **2.7 Triterpenos como posibles agentes anticancerosos potenciales**

Los triterpenos constituyen un grupo importante de metabolitos secundarios los cuales presentan una gran diversidad estructural. Se estiman cerca de 200 tipos de esqueletos triterpénicos, los cuales poseen una amplia distribución en el reino vegetal.

El estudio sistemático de plantas con antecedentes etnomédicos, ha conducido frecuentemente al aislamiento de diversos triterpenos biodinámicos. Así, se conocen antioxidantes, antiinflamatorios, hepatoprotectores, cardioprotectores, antagonistas de los receptores de estrógeno, antiproliferativos, citotóxicos en líneas de cáncer humano, antiangiogénicos y proapoptóticos.

Hasta la fecha, se han descrito más de cien triterpenos con actividad citotóxica. La variedad estructural de estos metabolitos secundarios es diversa ya que se han aislado ursanos, oleananos, cicloartanos, lupanos, así, como quinonas metilúricas. Los compuestos referidos más frecuentemente en la literatura pertenecen a los dos primeros tipos (Setzer y Setzer, 2003).

Por otro lado se han encontrado extractos orgánicos con actividad citotóxica en un gran número de líneas de cáncer humano. (Setzer y Setzer, 2003). Por ejemplo, el extracto etanólico de las hojas de la especie *Perilla frutescens*, mostró tener actividad citotóxica. El estudio fitoquímico de este extracto permitió el aislamiento de triterpenos que demostraron tener actividad antiinflamatoria en el modelo de TPA (13-acetato 12-O-tetradecaidoforbol). Así como actividad antitumoral utilizando DMBA (7,12-dimetilbenz(a)antraceno) como iniciador y TPA como promotor. Ambos ensayos fueron realizados en ratón (Banno, 2004).

Por otro lado, se han estudiado distintos extractos orgánicos de especies del género *Stenocereus* y algunas otras especies de la familia Cactáceae. Los resultados mostraron que estos extractos poseen propiedades antiinflamatorias inducida por TPA (13-acetato de 12-O-tetradecailforbol), (Kinoshita, 1998)

Tomando en cuenta lo anterior, nuestro grupo ha realizado una búsqueda sistemática de extractos y metabolitos secundarios de origen vegetal con propiedades antiinflamatorias y citotóxicas (Martínez-Vázquez *et al* 2001, 2007, Parra-Delgado *et al* 2005, 2006). En el presente trabajo se informa de los resultados, las propiedades antiinflamatorias y citotóxicas de extractos orgánicos de *Stenocereus zopilotesis* (Arreola y Terrazas, 2004) una nueva especie del género *Stenocereus* de la familia de las Cactáceas.

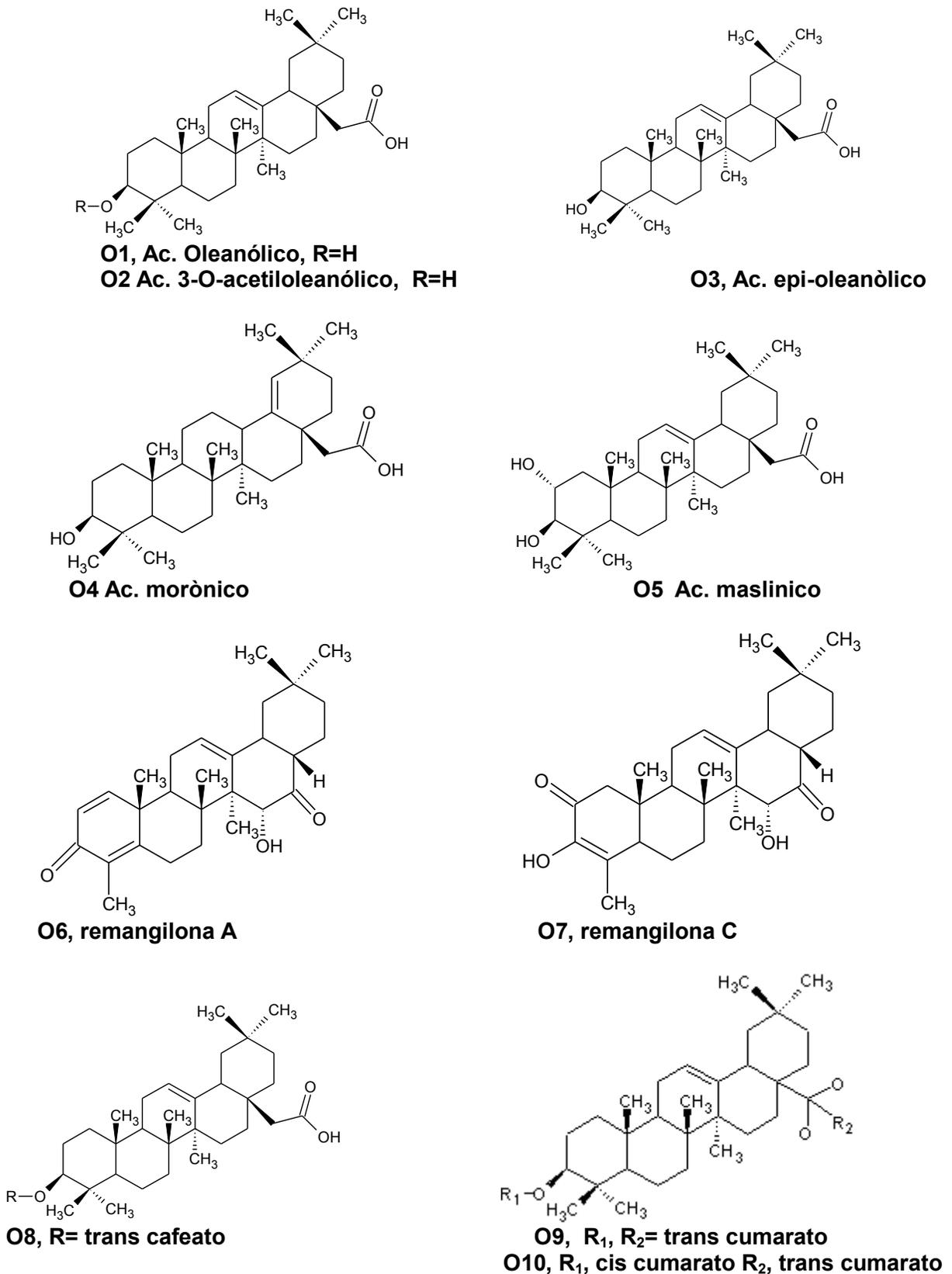
Hasta la fecha, diversas investigaciones han demostrado que el ácido oleanólico posee actividad citotóxica sobre diferentes líneas celulares de cáncer (Setzer y Setzer, 2003). Además, este compuesto induce la diferenciación en líneas celulares de leucemia murina y humana. En la figura 8 y en el cuadro 2 se muestran las estructuras químicas y la actividad citotóxica de algunos triterpenos de tipo oleanano.

Compuesto	Cl <sub>50</sub> (µM)	Línea celular	Referencia
O1	35.9	A549	Kim <i>et al</i> ; 2000
	27.2	SK-OV-3	
	40.5	SK-MEL-3	
	26.5	HCT15	
O2	168	HepG2	Selzer <i>et al</i> ; 2000
O3	35.7	KB	Camacho <i>et al</i> ; 2000
	74.1	P-388	
O4	7.9	HCT-15	Ríos <i>et al</i> ; 2000
	8.5	UIISO	
	11.6	KB	
O5	41	A549	Kim <i>et al</i> ; 2000
	38.9	SK-OV-3	
	41.9	SK-MEL-3	
	32.4	HCT-15	
O6	6.6	MDA-MB-231	Deng <i>et al</i> ; 1999
O7	1.6	MDA-MB-231	Deng <i>et al</i> ; 1999
O8	2.6	A549	Kim <i>et al</i> ; 2000
	2.6	SK-OV-3	
	2.8	SK-MEL-3	
	2.9	XF498	
	2.8	HCT-15	
O9	4.91	KB	Kashiwada <i>et al</i> ; 1993
O10	3.74	KB	Kashiwada <i>et al</i> ; 1993
O11	2.7	A549	Lee <i>et al</i> ; 2000
	2.1	HCT-15	
	3.9	MCF7	
	3.4	HT-1197	
O12	1	A549	Lee <i>et al</i> ; 2000

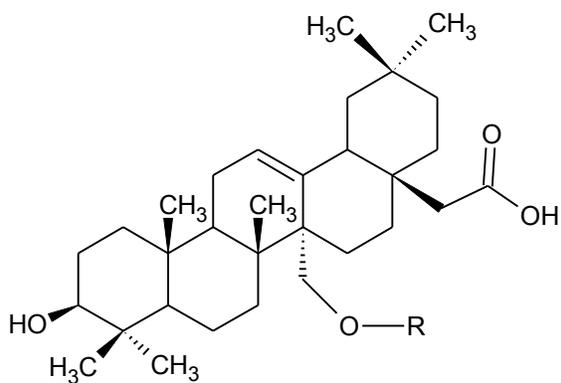
	2.1	HCT-15	
	3	MCF7	
	5.2	HT-1197	
O13	3	A549	Lee <i>et al</i> ; 2000
	1.9	HCT-15	
	1.9	MCF7	
	1.6	HT-1197	
O14	6.1	A549	Lee <i>et al</i> ; 2000
	0.8	HTC-15	
	1.8	MCF7	
	3.4	HT-1197	
O15	2.9	MCF7	Yun <i>et al</i> ; 1999
	3.5	PC-3	
	2.1	HCT-15	
O16	3.5	MCF7	Yun <i>et al</i> ; 1999
	2.6	PC-3	
	1.3	HCT-15	
O17	1.6	KB	Chang <i>et al</i> ; 2004
	3.6	HT29	
O18	1.3	KB	Chang <i>et al</i> ; 2004
	2.4	HT29	
O19	1.2	KB	Chang <i>et al</i> ; 2004
	2.1	HT29	
O20	5.31	CEM	Ramachandran <i>et al</i> ;
	10.19	CEM/VLB	2003
	7.70	SW620	
	12.70	SW620/Ad-300	
O21	20.1	A2780	Chaturvedula <i>et al</i> ;
			2002
O22	25.8	A2780	Chaturvedula <i>et al</i> ;
			2002
O23	125	GLC4	Atopkina <i>et al</i> ; 1999
	172	COLO320	
O27	12.1	A549	Yamagishi <i>et al</i> ; 1988
	8.6	HCT-8	
	13.7	P-388	
O32	>4.3	KB	Ikeda <i>et al</i> ; 1997
O33	>4.6	KB	Ikeda <i>et al</i> ; 1997
O34	0.9	KB	Ikeda <i>et al</i> ; 1997

**Cuadro 2.** Actividad citotóxica de algunas triterpenos del tipo oleanano (Parra, 2006).

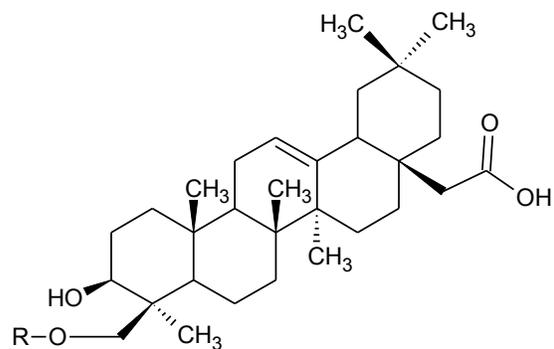
Se ha informado que los 3-*p*-cumaratos (cis y trans) del ácido oleanólico son capaces de inhibir la polimerasa del ADN (Syrovets, 2000).



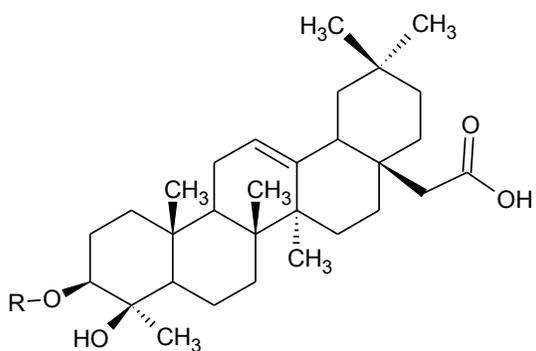
**Figura 8.** Algunos triterpenos del tipo oleanano con actividad anticancerosa (Parra, 2006).



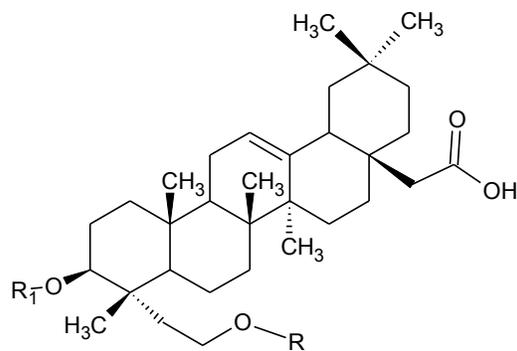
**O11, R= cis ferulato**  
**O12, R= trans ferulato**  
**O13, R= cis cumarato**  
**O14, R= trans cumarato**



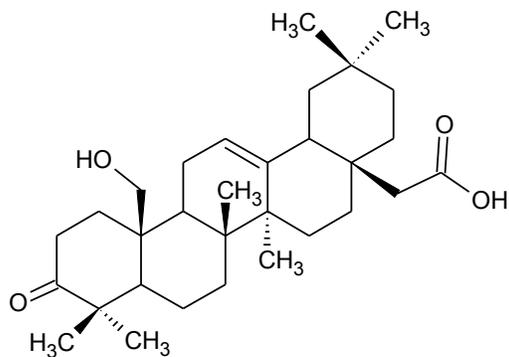
**O15, R= cafeato**



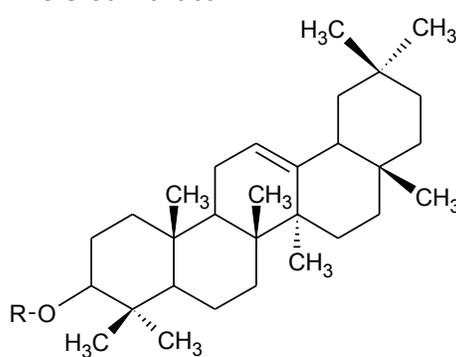
**O16, R= cafeato**



**O17, (23Z)-cumarol hederagenina,**  
**R1= H, R2= cis cumarato**  
**O18, (23E)-cumarol hederagenina**  
**R1= H, R2= trans cumarato**  
**O19, (3Z)-cumarol hederagenina**  
**R1= cis cumarato R2= H**

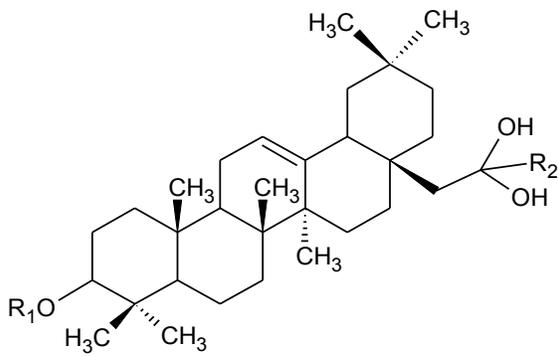


**O20, amoorina**

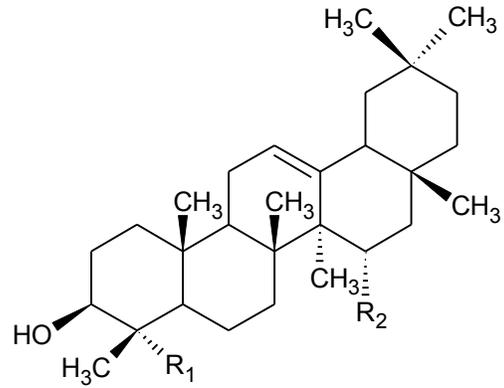


**O21, palmitato de β-amirina,**  
**R= -CO(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CH<sub>3</sub>**  
**O22, acetato de β-amirina, R=Ac**

Cont. **Figura 8.** Algunos triterpenos del tipo oleanano con actividad anticancerosa (Parra, 2006).



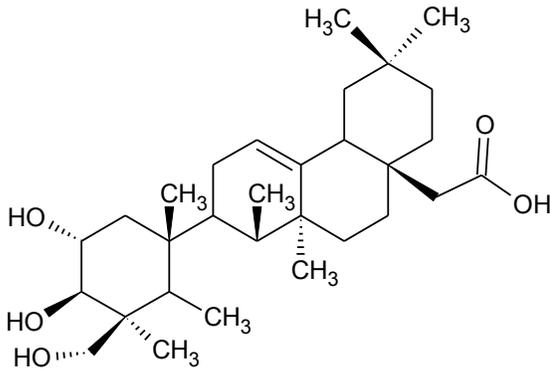
**O23, ginsenosido-Ro** R<sub>1</sub>= glc<sub>2</sub>-glucUA  
R<sub>2</sub>= glc



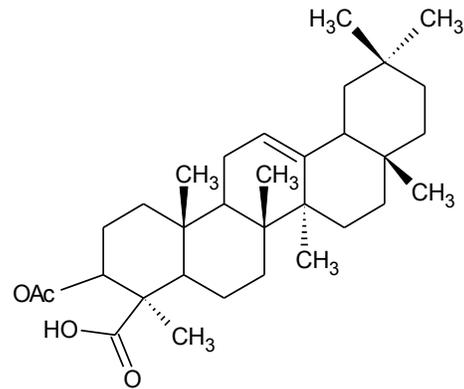
**O24, olean-12-en-3β,15α-diol,**  
R<sub>1</sub>= Me, R<sub>2</sub>= H

**O25, olean-12-en-3β,24-diol,**  
R<sub>1</sub>= CH<sub>2</sub>OH, R<sub>2</sub>= H

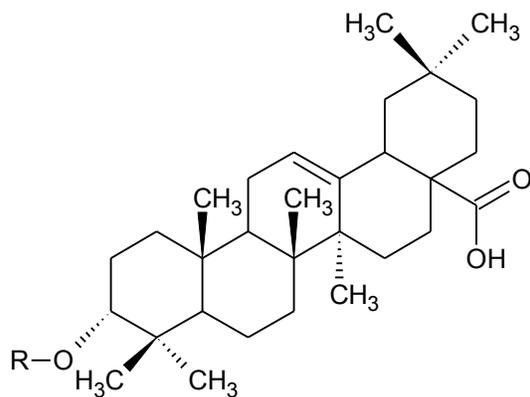
**O26, olean-12-en-3β,15α,24-triol,**  
R<sub>1</sub>= CH<sub>2</sub>OH, R<sub>2</sub>= OH



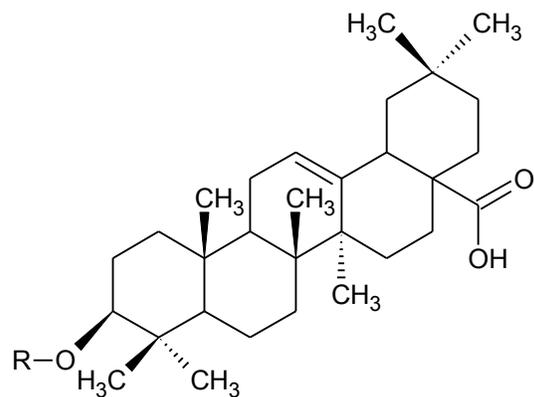
**O27, Ac. Hiptático**



**O28, Ac. 3-O-acetil-α-boswélico**

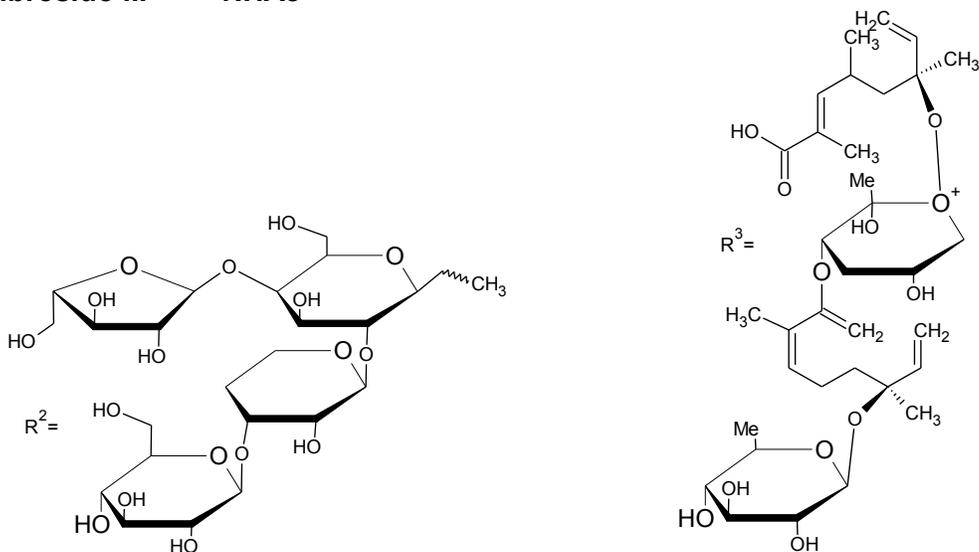
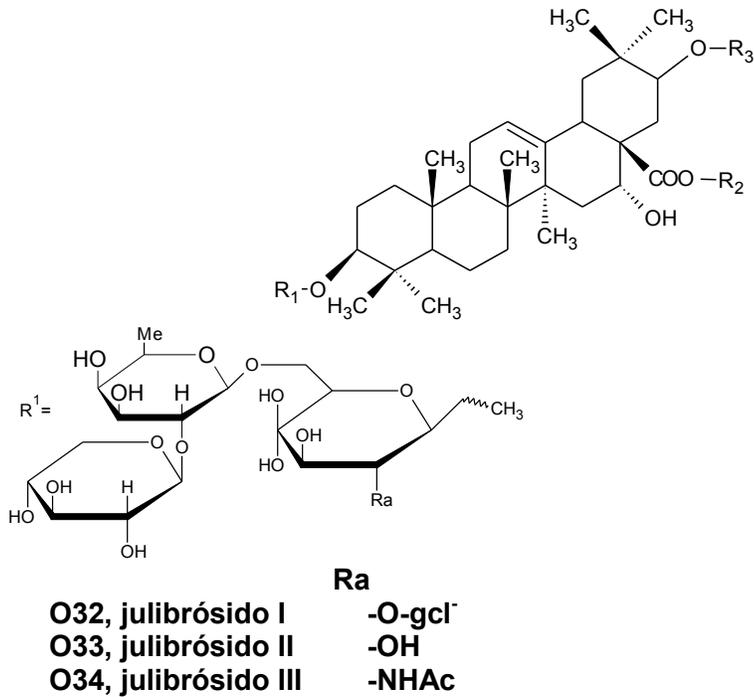


**O29, R= trans cumarato**  
**O30, R= cis cumarato**



**O31, zingibrósido R1**  
R= (Ac.-β-D-glucorónico)(Ac.-β-D-glucurónico)(β-D-glucopiranosil)

Cont. **Figura 8.** Algunos triterpenos del tipo oleanano con actividad anticancerosa (Parra, 2006).



Cont. **Figura 8.** Algunos triterpenos del tipo oleanano con actividad anticancerosa (Parra, 2006).

El ácido oleanólico ha sido el punto de inicio para la obtención de derivados para diversos fines. Las primeras transformaciones realizadas en la década de los sesenta, se efectuaron con el fin de obtener agentes antiinflamatorios novedosos. En 1984 Han y colaboradores, informaron de la síntesis de 11-oxo derivados del ácido oleanólico. Dichos derivados fueron concebidos como antiinflamatorios corticoides (Han *et al*, 1984).

Los descubrimientos obtenidos para algunos triterpenos del tipo oleanano hacen que este tipo de compuestos junto con otros metabolitos secundarios, se consideren como promisorios para el desarrollo de nuevos agentes antineoplásicos.

### **3. Metabolitos Secundarios**

Actualmente se sabe que la mayoría de los metabolitos secundarios cumplen funciones de defensa contra predadores y patógenos, actúan como agentes alelopáticos (que son liberados para ejercer efectos sobre otras plantas), o para atraer a los polinizadores o a los dispersores de las semillas. El reconocimiento de propiedades biológicas de muchos metabolitos secundarios ha alentado el desarrollo de este campo, por ejemplo en la búsqueda de nuevas drogas, antibióticos, insecticidas y herbicidas. Además, la creciente apreciación de los altamente diversos efectos biológicos de los metabolitos secundarios ha llevado a reevaluar las diferentes funciones que poseen en las plantas, especialmente en el contexto de las interacciones ecológicas (Swain, 1973).

#### **3.1 Característica de los metabolitos secundarios**

- Los metabolitos secundarios (MS) se caracterizan a grandes rasgos, por lo siguiente:
- La gran heterogeneidad de su estructura química.
- Su distribución restringida.
- Su formación por medio de enzimas codificadas por material genético especial.
- El control estricto de su biosíntesis, por medio de la regulación de la cantidad de enzimas involucradas y de la actividad de éstas.
- La compartimentación de enzimas, precursores, intermediarios y productos involucrados en su biosíntesis, almacenamiento y desintegración
- La expresión del metabolismo secundario como un aspecto de especialización celular o de la formación de nuevas células especializadas que se integran en los programas de diferenciación y desarrollo del organismo productor.
- La importancia relativa para la célula sintetizadora como tal, y la mayor importancia para el organismo como un todo.
- La falta de continuidad filogenética en muchos de ellos (Anaya, 2003).

### 3.2 Clases de metabolitos secundarios

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

- Compuestos alifáticos, carbocíclicos y heterocíclicos;
- Compuestos que contienen nitrógeno, fósforo y azufre;
- Compuestos saturados e insaturados;
- Glucósidos;
- Péptidos;
- Ácidos hidroxámicos;
- Azometinas, que contienen grupos funcionales diversos: hidroxilo, epoxi, éster, éter, amino, nitro, carboxi (Anaya, 2003).

Estos grupos diversos de MS se forman durante los procesos biosintéticos de cambios simples en la molécula de los precursores.

En un principio, se pensaba que la síntesis de MS estaba limitada a las plantas; superiores, pero muy pronto se pudieron detectar este tipo de compuestos en los cultivos de microorganismos y en los animales. La distribución individual de los MS en los seres vivos, es restringida, la probabilidad de que una vía metabólica se desarrolle independientemente durante la evolución, en grupos diferentes de organismos, disminuye a medida que aumenta su complejidad. Por lo tanto, los MS con estructuras químicas complicadas son importantes desde el punto de vista taxonómico.

La importancia metabólica de algunos compuestos secundarios puede ser importante, pero también, que su utilización es variable, lo cual hace difícil la comprensión de su "razón de ser"; por ejemplo, el mismo compuesto que en un grupo de organismos tiene un papel hormonal, y es por lo tanto, muy importante, en otros organismos no tiene efectos fisiológicos aparentes.

A medida que se avanzó en su descubrimiento y estudio, se pudo constatar que entre los MS podemos encontrar grupos de presencia y distribución más constante. Se ha comprobado que en ellos, el control genético es determinante, y su biosíntesis es más o menos específica en algunos grupos de plantas. En los años 70 se comprobó que los MS eran una expresión de la especialización celular y que ésta constituía la base de su heterogeneidad química. Lo cual explicaba también la distribución restringida de algunos de ellos, y el hecho de que el organismo productor se beneficiaba más de su existencia que la propia célula productora. La especificidad en su producción puede incluso determinar que en los diferentes órganos de una sola planta, se encuentre una gran variación en el contenido de MS.

A pesar de una cierta especificidad en la producción de MS en los organismos, en la mayoría de ellos

pueden encontrarse dos similares. Esto hace su poner que los compuestos secundarios tienen de una manera general, un origen similar en toda la materia viva (Anaya, 2003).

### **3.3 Clasificación biosintética de los metabolitos secundarios**

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

1. Fenilpropano
2. Acetogeninas
3. Terpenoides
4. Esteroides
5. Alcaloides (Anaya, 2003).

### **3.4 Terpenoides**

Este grupo de MS se produce a través de la vía del acetato y están formados por unidades de isopreno ( $C_5 H_8$ )<sub>n</sub>.

Su gran importancia como agentes de comunicación química entre organismos, dentro y entre especies, probablemente resulta de su volatilidad, combinada con la diversidad estructural tan extraordinaria que poseen.

La dimerización del sesquiterpeno farnesol origina al escualeno, triterpenoide fundamental, fuente de otros triterpenoides y de los esteroides. Existen pocas diferencias entre triterpenos y esteroides, por lo que generalmente se consideran como un sólo grupo de MS.

El colesterol y otros esteroides no son verdaderos triterpenos, en el sentido de que su estructura no se apega al patrón C<sub>30</sub>. Poseen esqueletos C<sub>27-29</sub> (o más pequeños), pero están correctamente clasificados dentro del grupo de los triterpenos verdaderos ya que todos derivan del mismo precursor C<sub>30</sub>, el escualeno (Anaya, 2003).

## **4. Familia Cactáceae**

La familia de las Cactáceas agrupa a plantas suculentas y en gran mayoría, espinosas, conocidas en conjunto como cactus o cactos. Esta familia es exclusiva del nuevo mundo, lo que significa que son endémicas del Continente Americano y las Antillas. Se cree que la colonización del Viejo Mundo por algunas de estas especies es relativamente reciente (unos cuantos cientos de años), probablemente transportada en el tracto digestivo de pájaros migratorios en forma de semillas o en forma de plantas adheridas a troncos impulsado por corrientes marinas. (Heinemann y Horst, 1980)

Esta familia ocupa el quinto lugar en diversidad, con alrededor de 55 géneros y 850 especies en el ámbito nacional (Rzedowski, 1983). México es el centro de diversificación de cactáceas más importante, con un elevado índice de endemismos (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991). Hernández y Godínez (1994) calculan que el grado de endemismos de las especies es del orden de 78% y de 73% a nivel de géneros, mientras que Arias (1993) estima que el endemismo a nivel de géneros es de 35% y el de especies es de 84%; aunque las cifras difieren, ambos trabajos coinciden en que el porcentaje de endemismos en México es muy alto. De las tres subfamilias, Cactoideae es la que más especies tiene y comprende aproximadamente 110 géneros (Mandujano, 2002).

La importancia de las cactáceas en la subsistencia y desarrollo diversas civilizaciones y tribus del México antiguo quedo manifestado en diversos códices. En estos documentos se plasmo el uso que hacían estas tribus de las cactáceas, ya sea como alimento, para usos medicinales así como representaciones simbólicas y en ceremonias religiosas (Batis, 2002).

Al igual que las suculentas, los miembros de la familia Cactáceae están bien adaptados a la vida con escasez de precipitaciones. Las hojas se han convertido en espinas, por lo cual, además de prevenir la evaporación del agua por transpiración, sirven de defensa a la planta contra el ataque de depredadores de esta especie (Azcón, 2000).

### **4.1 Subfamilias**

La familia Cactaceae comprende tres subfamilias de plantas perennes (es decir, que viven más de una estación): Pereskioideae, Cactoideae y Opuntioideae (Britton y Rose, 1919- 1923; Bravo-Hollis, 1978).

### **4.2 Géneros**

Hay más de 200 géneros de cactus (alrededor de 2 500 especies), en su mayor parte están adaptadas a climas áridos (Heinemann, Horst 1980).

### 4.3 Género *Stenocereus*

*Stenocereus* es el género de más amplia distribución de la tribu Pachycereeae de la familia Cactáceae, incluye 23 especies de las cuales la mayoría son endémicas de México. A este taxón pertenecen las plantas conocidas como pitayas, cuyos frutos se aprovechan para el consumo humano. Todas habitan en el bosque tropical caducifolio y en el matorral xerófilo del país (Gibson y Horak 1978).

En diferentes trabajos varía el número de especies incluidas en el grupo; Gibson *et al.* (1986) señalan que lo conforman nueve especies:

*S. beneckeii* (Ehrenb) Buxb

*S. chrysocarpus* Sánchez-Mejorada

*S. fricii* Sánchez-Mejorada

*S. littoralis* (K. Brandegees) L. W. Lenz

*S. montanus* (Britton y Rose) Buxb

*S. queretaroensis* (F. A. C. Weber) Buxb.,

*S. quevedonis* (J. G. Ortega) Bravo

*S. pruinosus* (Otto ex Pfeiff) Buxb.

*S. thurberi* (Engelm) Buxb.

*S. zopilotensis* (Arreola y Terrazas, 2004).

Más tarde Gibson (1990) añade a *S. chacalapensis* (Bravo et T. MacDoug.) Buxb. y *S. martinezii* (J. G. Ortega) Bravo y excluye a *S. fricii* y *S. pruinosus*.

Arreola (2000) propone redefinir el grupo de aréolas morenas con base en los resultados de un análisis filogenético e incluye únicamente siete entidades: *Stenocereus beneckeii*, *S. chrysocarpus*, *S. martinezii*, *S. montanus*, *S. queretaroensis*, *S. quevedonis* y *S. thurberi*. Estas especies conforman un clado monofilético, a exclusión de *S. chacalapensis*, *S. fricii*, *S. littoralis* y *S. pruinosus*. Algunas de las especies de *Stenocereus* con aréolas morenas no habían sido descritas en todas sus estructuras, sobre todo las florales, y no existía material de referencia adecuado que permitiera compararlas, por lo que a menudo se habían confundido entre ellas, en especial *S. chrysocarpus*, *S. montanus* y *S. queretaroensis* (Nava y Terrazas, 2003). En cuanto a *Stenocereus zopilotensis* no se tienen registros de sus usos antropológicos. En el cuadro 3 se muestran los distintos usos para algunas especies del género *Stenocereus*.

Especie	Tipo de uso	Procedencia
<i>Stenocereus beneckeii</i>	2,2,6	s
<i>S. chacalapensis</i>	1,2	s
<i>S. chrysocarpus</i>	1,2	s, m
<i>S. eichlamii</i>	1	s,m,c
<i>S. fricii</i>	1,2,4,6	s
<i>S. montanus</i>	1	s,m,c
<i>S. pruinus</i>	1,2,6,7	s,m,c
<i>S. queretaroensis</i>	1,2,6	s,m,c
<i>S. quevedonis</i>	1,2,4,6	s,m,c
<i>S. stellatus</i>	1,2,3,5,6,7	s,m,c
<i>S. standleyi</i>	1,2,4,6	s,m,c
<i>S. treleasei</i>	1,2,4,6,7	s,m,c

**Cuadro 3.** Cactáceas columnares mesoamericanas.

Usos: 1 = frutos comestibles; 2 = forraje; 3 = bebida alcohólica; 4 = semillas comestibles; 5 = tallos y flores comestibles; 6 = cercas vivas; 7= leña. Estatus cultural: s = silvestre recolectada; m = manejada *in situ*; c = cultivada. (Bravo-Hollis, H. 1978.)

#### 4.4 Clasificación taxonómica de *Stenocereus zopilotensis*

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Orden: Caryophyllales
- Familia: Cactaceae
- Subfamilia: Cactoideae
- Tribu: Pachycereeae
- Género: *Stenocereus*
- Especie: *Stenocereus zopilotensis* (Arreola y Terrazas) (Figura 9).

#### 4.5 Características taxonómicas de *Stenocereus zopilotensis*

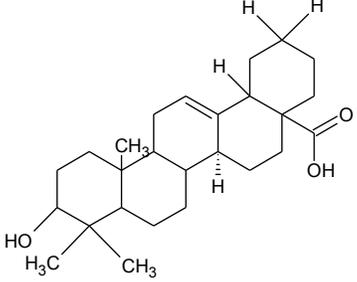
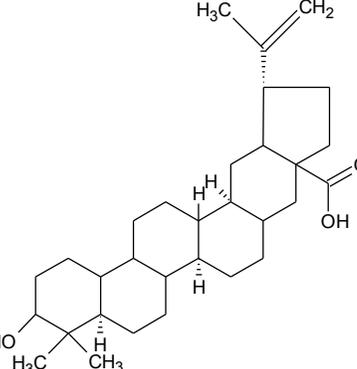
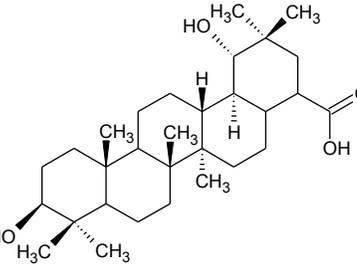
- Cactus columnar arborescente de 4 a 5m de altura.
- Numerosos talos verde claro, rectos, paralelos y juntos de 6 a 10 cm de diámetro.
- Tiene 7,8 ó 9 costillas redondeadas y obtusas de aproximadamente 1cm.
- Areola de 5 a 6 mm y de 10 a 14 espinas blancas que se torna grises con la edad de 0.3 a 4.5 cm según la posición.
- Presentan floración en junio-agosto con flores blancas de 5,6 ó 7cm de longitud y 4 a 5cm de diámetro.
- Frutos esféricos de 5 a 6cm de diámetro que maduraran en los meses de agosto-septiembre. (Arreola y Terrazas, 2004).



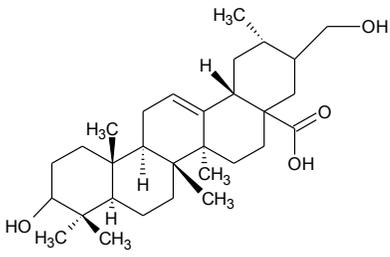
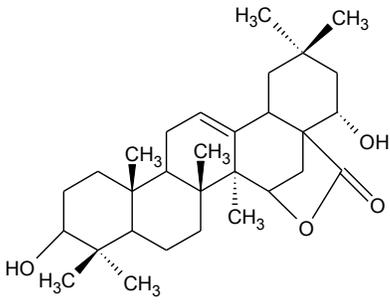
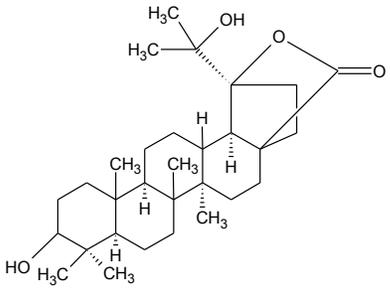
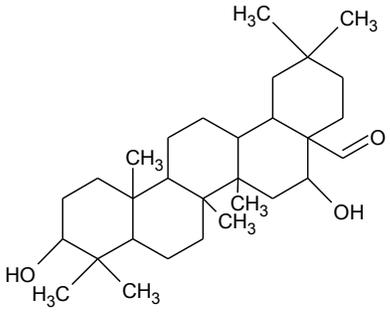
**Figura 9.** *Stenocereus zopilotensis*

#### 4.6 Química del género *Stenocereus*

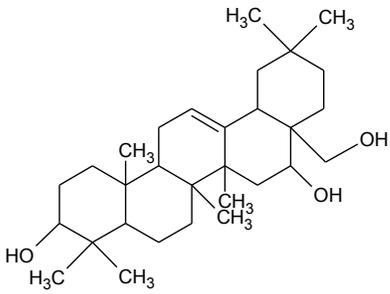
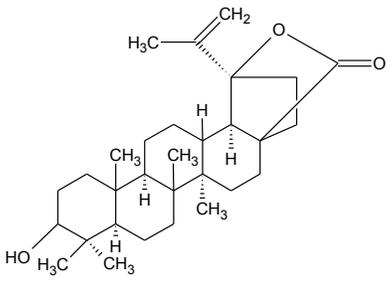
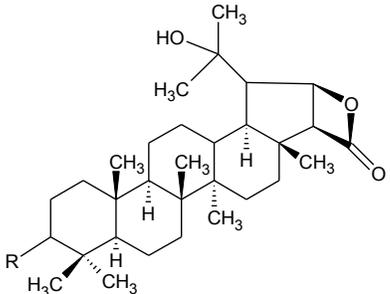
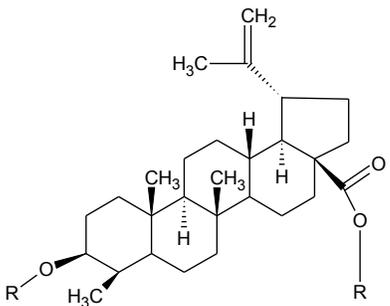
La química de este género está conformada por compuestos de tipo triterpeno como se muestra en el cuadro 4.

Compuesto	Presente en <i>Stenocereus</i>	Estructura química
Ac. oleanólico	<p><i>eruca, stellatus, hystrix, thurberi</i> <i>longispinus, trelesi.</i></p> <p>(Djerassi 1953, Djerassi y Lippman 1954)</p>	
Ac. betulónico	<p><i>eruca, stellatus,</i> <i>hystrix, griceus.</i></p> <p>(Djerassi 1953, Djerassi y Lippman 1954, Djerassi 1954)</p>	
Ac. machareico	<p><i>eruca, stellatus</i></p> <p>(Djerassi 1954)</p>	

**Cuadro 4.** Química presente en el género *Stenocereus*

Ac. querétaroico	<p style="text-align: center;"><i>queretaroensis</i>,</p> <p style="text-align: center;"><i>benckey, quevedonis.</i></p> <p style="text-align: center;">(Djerassi y Lippman 1954, Djerassi 1955)</p>	 <p>The structure shows a complex polycyclic steroid-like skeleton with multiple methyl groups (H<sub>3</sub>C) and hydroxyl groups (OH). A side chain at the top right features a hydroxyl group (OH) and a hydroxymethyl group (-CH<sub>2</sub>OH).</p>
dumortogenina	<p style="text-align: center;"><i>longispinus, dumortieri</i></p> <p style="text-align: center;">(Djerassi 1954, Djerassi 1955)</p>	 <p>The structure is a complex polycyclic steroid-like molecule with several methyl groups (CH<sub>3</sub>) and hydroxyl groups (OH). It features a side chain with a methyl group (CH<sub>3</sub>) and a hydroxyl group (OH).</p>
Estalatogenina	<p style="text-align: center;"><i>eruca, stellatus,</i></p> <p style="text-align: center;"><i>treleasi</i></p> <p style="text-align: center;">(Djerassi 1953, Djerassi y Lippman 1954, Djerassi 1954)</p>	 <p>The structure is a complex polycyclic steroid-like molecule with several methyl groups (CH<sub>3</sub>) and hydroxyl groups (OH). It features a side chain with a methyl group (H<sub>3</sub>C) and a hydroxyl group (OH).</p>
Gumusogenina	<p style="text-align: center;"><i>gummosus.</i></p> <p style="text-align: center;">(Djerassi 1954)</p>	 <p>The structure is a complex polycyclic steroid-like molecule with several methyl groups (CH<sub>3</sub>) and hydroxyl groups (OH). It features a side chain with a methyl group (H<sub>3</sub>C) and a hydroxyl group (OH).</p>

Cont. **Cuadro 4.** Química presente en el genero *Stenocereus*

Longispinogenina	<p><i>gummosus, hystrix, longispinus, griseus.</i></p> <p>(Djerassi y Lippman 1954, Djerassi 1954)</p>	
Turberogenina	<p><i>eruca, stellatus,</i></p> <p><i>thurberi, longispinus, dumortieri.</i></p> <p>(Djerassi 1953, Djerassi y Lippman 1954, Djerassi 1954)</p>	
Stelatosido B	<p><i>eruca</i></p> <p>(Okazaki 2007)</p>	
Erucasaponina A	<p><i>eruca</i></p> <p>(Okazaki 2007)</p>	

Cont. **Cuadro 4.** Química presente en el genero *Stenocereus*

(Djerassi *et al*, 1953, Djerassi y Lippman, 1954, Djerassi *et al* ; 1954, Djerassi *et al* ; 1955, Okazaki *et al*, 2007).

## 5. Justificación

Las plantas medicinales y sus extractos representan una alternativa en el tratamiento de diversas enfermedades. De tal forma que en la actualidad varios fármacos son elaborados a partir de metabolitos secundarios o incluyen moléculas de tipo natural. La aspirina, atropina, endrina, dioxina, morfina, quinina, reserpina y tubocarina son ejemplos de estos fármacos (Anwarul y Atta-ur, 2005)

En México, la medicina tradicional se remonta desde tiempos prehispánicos lo que se ha traducido en un gran conocimiento de la flora medicinal.

De acuerdo con estudios etnobotánicos, varias especies de la familia Cactaceae han sido usadas en el desarrollo y subsistencia de diversas tribus de México antiguo, lo cual quedó manifestado en diversos códices. En estos documentos se plasmó el uso que hacían estas tribus de las cactáceas, ya sea como alimento, o para usos medicinales. También, varias especies se utilizaron para representaciones simbólicas y ceremonias religiosas.

Dentro de las especies de la familia Cactácea se ubica *Stenocereus zopilotensis*, la cual recientemente se ha incluido al género *Stenocereus*. Aunque es endémica y se ha mencionado que está en peligro de extinción. Como la mayoría de las especies de la familia, de *S. zopilotensis* no existen informes acerca de la composición química así como de su actividad biológica.

Se ha reportado la existencia de una gran cantidad de metabolitos secundarios producidos por la familia Cactaceae sin embargo, predominan los triterpenos. Se conoce que este tipo de metabolitos secundarios presentan propiedades citotóxicas y antiinflamatorias. Del género *Stenocereus* se han aislado compuestos de tipo triterpenoide con propiedades citotóxicas y antiinflamatorias, así como también bactericida, fungicida, antiviral, antialérgica, entre otras. Ejemplo de estos es el ácido oleanólico el cual posee actividades citotóxicas y antiinflamatorias (Cantrell *et al*; 1996). Tomando en cuenta lo anterior se realizó un estudio fitoquímico y farmacológico de los extractos orgánicos de raíces y partes aéreas de *Stenocereus zopilotensis*.

## 6. Hipótesis

De acuerdo con la literatura, se han obtenido extractos y compuestos con propiedades antiinflamatorias y citotóxicas, de algunas especies de *Stenocereus*, entonces es posible suponer que extractos y compuestos obtenidos a partir del *Stenocereus zopilotensis* también presenten actividad antiinflamatoria y citotóxica.

## 7. Objetivos

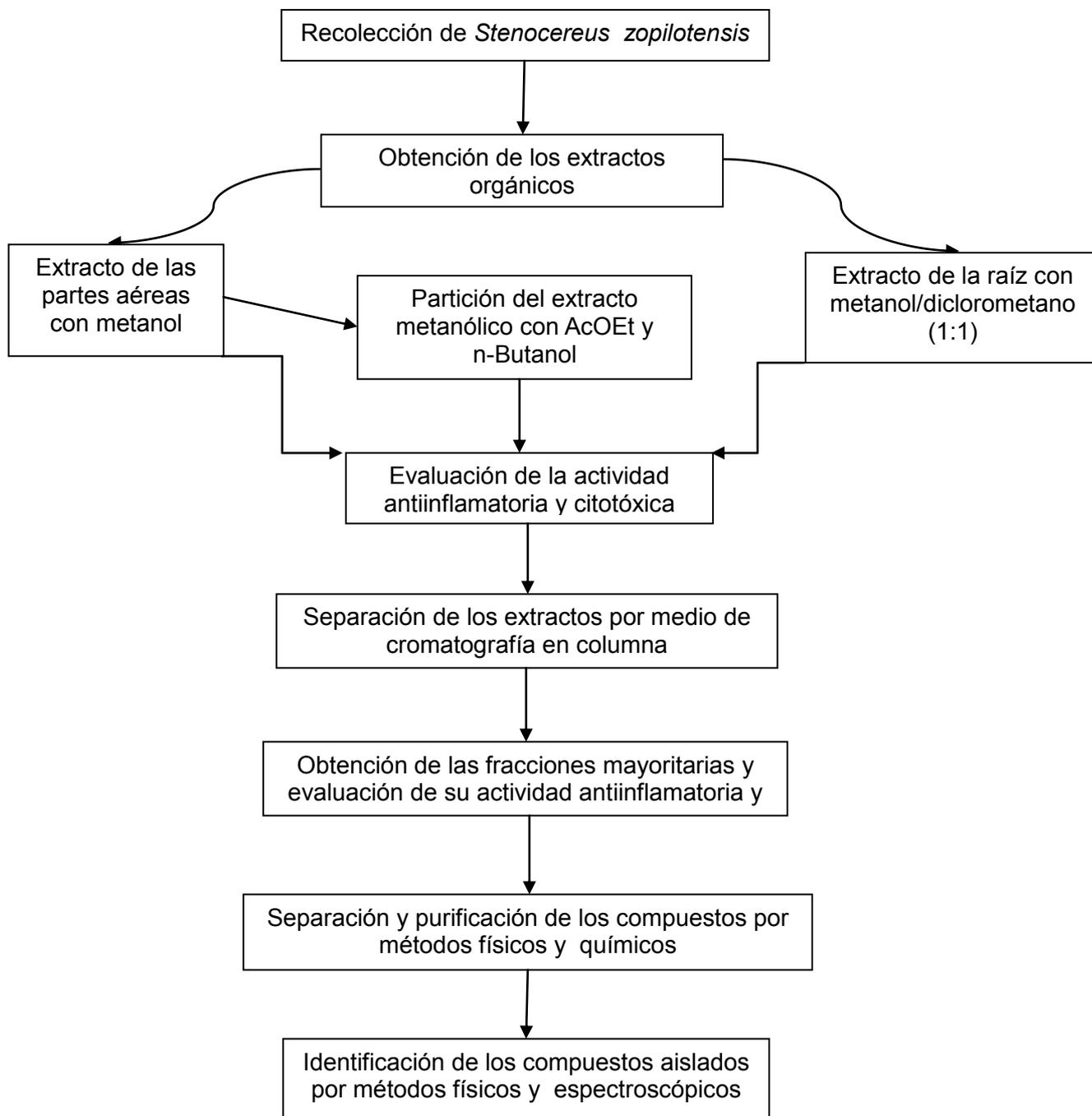
### 7.1 Objetivo general

Evaluar la actividad antiinflamatoria y citotóxica de extractos orgánicos así como de algunos metabolitos secundarios aislados a partir de *S. zopilotensis*.

### 7.2 Objetivos particulares

- Obtener el extracto MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1) de la raíz de *S. zopilotensis*
- Obtener el extracto metanólico de las parte aéreas de *S. zopilotensis*.
- Determinar la actividad antiinflamatoria de los extractos orgánicos de *S. zopilotensis* en el modelo de edema inducido por el 13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (TPA), en oreja de ratón.
- Determinar la actividad citotóxica de los extractos orgánicos de *S. zopilotensis* en líneas de cáncer humano U251, PC-3, K562, HCT-15, MCF-7, SKUL-1, mediante el ensayo de sulforrodamina B.
- Aislar e identificar, mediante métodos físicos y espectroscópicos, algunos de los metabolitos secundarios de los extractos orgánicos de *S. zopilotensis*

## 8. Estrategia de trabajo



## 8.1 Materiales y métodos

Las cromatografías en columna (CC) se realizaron en columnas de vidrio de distintas capacidades. Se utilizó gel de sílice (Alugram malla 70-230 Merck) como soporte para los distintos procesos cromatográficos.

Las cromatografías de capa fina se realizaron en cromatófolios de aluminio cubiertos con gel de sílice (DC Fertigplatter Sil G200, UV Merck de 0.2mm de espesor con indicador de fluorescencia W254), como reveladores se emplearon una solución de sulfato cérico ( $\text{Ce}_2\text{SO}_4$ ) al 1% con ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 2N; y una lámpara de luz UV de 254 y 365nm (serie Cole Parmer 9815). La destilación de las diferentes mezclas de disolventes de las fracciones cromatográficas se realizaron a presión reducida en un rotavapor Buchii 110.

Los espectros de absorción infrarroja, se obtuvieron en los espectrofotómetros Nicolet modelo Magna 750 y Nicolet FT-IR5-5X. Las muestras se prepararon en mezcla con KBr (pastilla) o en solución de  $\text{CHCl}_3$ . Las absorbancias se midieron en  $\text{cm}^{-1}$

Los puntos de fusión se determinaron en un equipo Fisher Johns y no fueron corregidos. Los espectros de RMN<sup>H</sup> y C<sup>13</sup>, se adquirieron en los equipos Varian-Gemini 200, Unity 300.

## 8.2 Recolecta del Material Vegetal

Las partes aéreas así como las raíces de *S. zopilotensis*, estudiadas en este trabajo, fueron recolectadas en el cañón del zopilote, Guerrero el 10 de marzo del 2007. La especie fue identificada por la Dra. Teresa Terrazas del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Un ejemplar fue depositado en el Herbario Nacional MEXU. El material fue fragmentado en pequeños trozos y secado en el laboratorio a temperatura ambiente.

## 8.3 Obtención de los extractos

Las partes aéreas secas se maceraron con metanol durante 24 h a temperatura ambiente, repitiéndose tres veces el proceso. Con el fin de eliminar el material vegetal las diferentes extracciones fueron filtradas. El disolvente se destiló a presión reducida, mediante un rotavapor, obteniéndose el extracto metanólico. Una alícuota de 500 ml

del extracto metanólico fue sometido a procesos de partición con acetato de etilo y con n-butanol. La evaporación de los disolventes permitió la obtención de los extractos respectivos. Por otro lado, la raíz se extrajo en una mezcla metanol/diclorometano (1:1) durante 24 h a temperatura ambiente. El proceso se repitió tres veces, el disolvente se eliminó a presión reducida.

#### **8.4 Fraccionamiento de los extractos orgánicos**

El extracto metanólico de *S. zopilotensis* se separó por cromatografía en columna. Se utilizó una columna abierta empacada con gel de sílice y eluida con mezclas de disolventes de polaridad ascendente, iniciando con hexano, siguiendo con mezclas de hexano/AcOEt y terminando con MeOH. Las fracciones obtenidas fueron analizadas por cromatografía en capa fina (CCF) y aquellas que mostraron el mismo patrón cromatográfico fueron reunidas.

#### **8.5 Purificación de los compuestos**

Los compuestos impuros obtenidos de las fracciones cromatográficas fueron purificados mediante cromatografía en placa preparativa, así como por cristalizaciones sucesivas por par de disolventes.

#### **8.6 La identificación de los compuestos**

La identificación de los productos aislados se llevó a cabo por la determinación de sus propiedades físicas y el análisis de sus datos espectroscópicos (IR, RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT, HMBC).

#### **8.7 Evaluación de la actividad citotóxica**

Para la determinación citotóxica de los extractos y de los compuestos aislados, se utilizaron las líneas celulares: HCT-15 (colon), MCF-7 (mama), K-562 (leucemia), U-251 (sistema nervioso central), PC-3 (próstata) y SKUL-1 (pulmón), provenientes del Instituto Nacional de Cáncer de Estados Unidos (National Cancer Institute; NCI).

La citotóxicidad de los compuestos fue determinada en microcultivos, midiendo la viabilidad y crecimiento celular indirectamente por el método de la sulforrodamina B de acuerdo a los procedimientos validados por el NCI. La metodología se describe a continuación:

Las líneas celulares fueron cultivadas en medio RPMI-1640 con 10% de suero fetal de bovino (SFB) y glutamina 2.0  $\mu$ M. Las células se mantuvieron en incubación en un ambiente saturado de humedad en una atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> y a 37° C. Posteriormente las células que se adhirieron a los frascos de cultivo, fueron removidas suavemente con una solución de tripsina-EDTA al 0.05% utilizando una pipeta. La determinación de la densidad y de la viabilidad de las líneas celulares se llevó a cabo en un hematocitómetro, utilizando la técnica por exclusión con azul de tripano. En cuadro 4 se muestran las características de las distintas líneas celulares.

Después de que se contaron las células, se hizo una dilución para obtener una densidad adecuada. La suspensión celular se sembró en placas de 96 pozos de 5000 a 1000 células viables según los estándares propuestos por el NCI para cada línea celular (Cuadro 5). Todas las líneas celulares se incubaron por un periodo de 24 horas a 37 °C antes de adicionar los compuestos a evaluar.

Línea celular	Tejido de origen	Tiempo de duplicación (h)	Densidad del inóculo (Cel/mL)	Cel/pozo (100 $\mu$ L)
U-251	Sistema nervioso central	25.4	7.5 X10 <sup>4</sup>	7 500
PC-3	Próstata	28.7	7.5 X10 <sup>4</sup>	7 500
HCT-15	Colón	18.1	10 X10 <sup>4</sup>	10 000
K-562	Leucemia mioblástica crónica	19.0	5 x10 <sup>4</sup>	5 000
MCF-7	Mama	20.1	5 x10 <sup>4</sup>	5 000
SKUL-1	Pulmón	23.8	5x10 <sup>4</sup>	5 000

**Cuadro 5.** Características de las líneas celulares

Tomando en cuenta las recomendaciones del Instituto de Cáncer de los Estados Unidos, los extractos fueron evaluados a una concentración de 50  $\mu$ g/mL solubilizados

en dimetil sulfóxido (DMSO), las disoluciones preparadas fueron depositadas en cada uno de los pozos y estos fueron incubados por 48 horas a 37° C, en una atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> y 100% de humedad. El crecimiento y viabilidad celular se determinó mediante la técnica de la sulforrodamina B.

Posteriormente a la incubación, los cultivos celulares fueron fijados in situ con 50 µL de ácido tricloroacético frío (50% m/v) y se incubaron 1 hora a 4 °C. Transcurrido este tiempo, se procedió a desechar el sobrenadante y los cultivos se lavaron 5 veces con agua desionizada. Posteriormente, a cada pozo se le adicionaron 100 µL de solución de sulforrodamina B (0.4% p/v en ácido acético al 1%), después de 10 minutos el exceso de sulforrodamina se removió lavando 5 veces con ácido acético al 1%. Finalmente se obtuvo el botón de células y se solubilizó con buffer tris, para determinar su densidad óptica, la cual es inversamente proporcional al grado de citotoxicidad de un compuesto de prueba y proporcional al crecimiento celular. Esta última se realizó en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 515 nm (Lector de ELISA BIO-TEK, ELx 808). El ensayo se llevo acabo de acuerdo a lo estipulado por el NCI. Los compuestos de referencia fueron doxorubicina y cisplatino.

## 8.8 Evaluación de la actividad antiinflamatoria

La evaluación de la actividad antiinflamatoria de los extractos así como los metabolitos aislados se realizó utilizando el método de inducción de edema por el 13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (TPA), siguiendo la metodología propuesta en 1994 por Della. La disolución de TPA, se preparó disolviendo 2.5 µg de 13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol en 10 µml de etanol.

El compuesto a evaluar se aplicó por vía cutánea 10 minutos después de la inducción de la inflamación por TPA, también por vía cutánea en la oreja de ratón. Se utilizaron cinco ratones de la cepa CD1, para cada ensayo.

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

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

Donde  $\overline{C_r}$  y  $\overline{C_t}$  corresponden respectivamente al peso de la muestra de oreja tratada con TPA y la tratada con TPA más el compuesto a evaluar.

Los datos se analizaron por un análisis de varianza y una prueba de Dunnet.

## 9. Resultados

### 9.1 Obtención de extractos orgánicos de *S zopilotensis*

Los rendimientos del extracto metanólico de las partes aéreas (PA) y del extracto de MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> de la raíz (SZR), fueron de 25.97 y 11.43 % respectivamente (Cuadro 6).

Material vegetal (g)	Extracto obtenido (g)	Rendimiento (%)
PA 1399.43	363.444	25.97
SZR 134.99	15.433	11.43

**Cuadro 6.** Rendimiento de los extractos.

Una alícuota (30 g) del extracto metanólico de las partes aéreas de *S. zopilotensis* fue tratado, sucesivamente, con acetato de etilo, un disolvente menos polar que el metanol y n-butanol, más polar que el metanol. El siguiente cuadro muestra el rendimiento para cada disolvente (Cuadro 7).

Partición	Cantidad (g)	Rendimiento (%)
Acetato de etilo	0.1045	0.02
n-Butanol	1.6759	0.46

**Cuadro 7.** Rendimiento de los extractos de Acetato de etilo y n-butanol

### 9.2 Evaluación de las actividad citotóxica y antiinflamatoria de los extractos orgánicos de *S. zopilotensis*

En el cuadro 8 se muestran los resultados obtenidos de la actividad citotóxica para los diferentes extractos obtenidos de *S. zopilotensis*.

Extracto	Inhibición del crecimiento celular (%)					
	U251	PC3	K562	HCT15	MCF7	SKUL
Partes aéreas extracto metanólico (SZPAM)	2.57	7.26	49.20	39.14	13.42	21.86
Partes aéreas extracción con AcOEt (SZPAA)	43.05	42.37	91.38	67.52	35.70	74.58

Partes aéreas extracción con n-butanol (SZPAB)	17.54	Sa	71.12	50.28	22.47	74.58
Extracto de la raíz (SZR)	27.17	21.58	93.57	62.82	31.25	76.11
Doxorrubicina 2 µg/mL *	80.62	47.89	75.56	50.63	36.13	74.58

**Cuadro 8.** Inhibición del crecimiento celular de los extractos de *S. zopilotensis* a la concentración de 50 µg/mL (Sa= sin actividad)

\*Valores históricos del control positivo.

El cuadro 9 muestra los resultados de la evaluación antiinflamatoria de los diferentes extractos en el modelo de edema inducido por TPA

Muestra	Dosis	Edema (mg)	Inhibición (%)
control		14.97±0.45	
SZPAM	1mg/oreja	4.23±0.039*	67.91
SZPAA	1mg/oreja	6.40±1.22	37.19
SZPAB	1mg/oreja	11.40±0.06	23.83
SZR	1mg/oreja	9.53±1.07*	36.30

**Cuadro 9.** Inhibición de la actividad antiinflamatoria de los extractos de *S. zopilotensis* Vehículo: Metanol, Vía de administración: tópica. (\* diferencia significativa con respecto al control p.005)

Los resultados de actividad de inhibición de crecimiento celular por el método de sulforamina B indicaron que el extracto de acetato de etilo (SZPAA) fue uno de los más activos en la línea K562. Sin embargo el poco rendimiento, a partir del extracto metanólico, del extracto SZPAA no permitió realizar estudios posteriores.

### 9.3 Fraccionamiento del extracto metanólico

Del extracto metanólico de las partes aéreas (SZPAM) se tomaron 40 g, los cuales fueron separados por cromatografía en columna empacada con 222.5 g de gel de sílice y eluida con mezclas de disolventes de polaridad creciente. Se obtuvieron un total de 323 fracciones de 250 mL cada una.

En el cuadro 10 se muestran el número de fracciones obtenidas, así como los disolventes utilizados para su elusión.

Fracciones	Disolvente (%)
1-12	100 Hexano
13-43	75/25 Hexano/AcOEt
44-88	70/30 Hexano/AcOEt
89-128	60/40 Hexano/AcOEt
129-147	50/50 Hexano/AcOEt
148-173	25/75 Hexano/AcOEt
174-215	100 AcOEt
216-300	75/25 AcOEt/MeOH
301-323	100 MeOH

**Cuadro 10.** Fracciones obtenidas del extracto de PA

De manera similar, al extracto de la de las raíces de *S. zopilotensis* se tomaron 10 g, los cuales se cromatografiaron en una columna abierta empacada con 30 g de gel de sílice obteniéndose un total 289 fracciones de 150 mL cada una. El cuadro 11 muestra el número de fracciones obtenidas, así como los disolventes utilizados para su fraccionamiento.

Fracciones	Disolvente (%)
1-20	100 Hexano
21-26	90/10 Hexano-AcOEt
27-52	70/30 Hexano-AcOEt
53-59	60/40 Hexano-AcOEt
60-68	50/50 Hexano-AcOEt
69-81	40/60 Hexano-AcOEt
82-95	30/70 Hexano-AcOEt
96-127	20/80 Hexano-AcOEt
128-145	100 AcOEt
146-213	80/20 AcOEt-MeOH
214-263	60/40 AcOEt-MeOH
264-282	50/50 AcOEt-MeOH
283-289	40/60 AcOEt-MeOH

**Cuadro 11.** Fracciones obtenidas del extracto de la raíz

#### 9.4 Evaluación de la actividad citotóxica y antiinflamatoria de algunas fracciones de los extractos orgánicos de *S. zopilotensis*.

Debido a que fueron las fracciones mayoritarias y que sus perfiles cromatográficos en CCF fueron similares, las fracciones 219-238 del extracto metanólico de PA fueron reunidas. Esta reunión se denominó **A**. De manera similar se reunieron las fracciones 245-283, la reunión resultante se denominó **B**. En el cuadro 12 se muestra los resultados obtenidos de la evaluación de la actividad antiinflamatoria en el modelo de edema inducido por TPA para **A** y **B**.

Fracciones	Dosis	Edema (mg)	Inhibición (%)
control		14.97±0.45	
Partes aéreas de la reunión de fracciones 219-238 ( <b>A</b> )	1mg/oreja	8.77±1.57	41.81*
Partes aéreas fracción 245-283 ( <b>B</b> )	1mg/oreja	10.07±2.20	8.21

**Cuadro 12.** Inhibición de la actividad antiinflamatoria de fracciones de extracto de *S. zopilotensis*.

(\* diferencia significativa con respecto al control p.005)

En el cuadro 13 se muestran los resultados obtenidos de la actividad citotóxica para **A** y **B**.

Fracciones	Inhibición del crecimiento celular (%)					
	U251	PC3	K562	HCT15	MCF7	SKUL
<b>A</b>	29.37	23.01	27.96	10.96	Sa	9.54
<b>B</b>	100	69.80	85.76	77.79	53.24	84.89
Doxorrubicina 2 µg/mL *	80.62	47.89	75.56	50.63	36.13	74.58

**Cuadro 13.** Inhibición del crecimiento celular de **A** y **B**.

Dosis 50 µg/mL

(Sa= sin actividad)

(\*Valores históricos del control positivo)

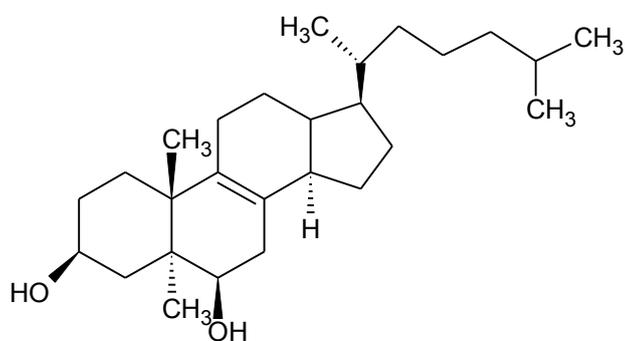
(**A**)= *S. zopilotensis* partes aéreas reunión de fracciones 219-238

(**B**)= *S. zopilotensis* partes aéreas reunión de fracciones 245-283

## 10. Compuestos aislados

### 10.1 Peniocerol

A partir de las fracciones obtenidas en 7/3 Hexano/AcOEt de la columna cromatográfica del extracto SZR, se obtuvieron 378 mg de un sólido amarillo. El análisis mediante cromatografía en placa fina eluida con 1:1 Hexano-AcOEt reveló que se trataba de una mezcla. La cromatografía, de ésta mezcla, en columna abierta empacada con gel de sílice y eluida con AcOEt-Hexano 3:1, permitió el aislamiento de 23 mg de peniocerol (Figura 10). La identidad de este compuesto se logró por la comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con aquellos informados en la literatura (Djerassi, 1965).



**Figura 10.** Estructura química del Peniocerol

### 10.2 Ester del 3-O-D-glucuronopiranosil 28-O-β-glucopiranosil(1→4)α-L-ramnopiranosil ácido oleanólico.

De la reunión **A**, se logró aislar 10.632 g de un sólido amarillo, el cual se purificó mediante precipitaciones sucesivas obteniéndose 1.060 g de un sólido **1** con p. f. de 238-240° C.

En el espectro de IR (infrarrojo) de **1** se observaron bandas a 3397.28, 1729.37 y 1649.18 cm<sup>-1</sup> las cuales corresponden a los grupos funcionales: alcohol, éster y una doble ligadura respectivamente.

En el espectro de masas de bombardeo rápido de átomos (FAB-MS) se observó un pseudo ión molecular a 979g/mol para una fórmula [C<sub>48</sub> H<sub>76</sub> O<sub>18</sub>] + [K<sup>+</sup>] así como un pico a 963g/mol para [C<sub>48</sub> H<sub>76</sub> O<sub>18</sub>] + [Na<sup>+</sup>], estos datos demuestran que el peso molecular

de **1** es de 940g/mol para una fórmula de  $C_{48}H_{76}O_{18}$

El compuesto **1** presentó las siguientes señales:

RMN  $^1H$  300 MHz ( $C_5D_5N$ ) $\delta$ : 5.387 (H-12), 1.22(H-23), 1.05(H-24), 0.918(H-25), 1.05(H-26), 1.326(H-27), 0.918(H-29), 1.030(H-30).

En el espectro de RMN  $^{13}C$  adquirido a 75.4 MHz en disolución de  $C_5D_5N$ , se observaron las señales de los 48 átomos de carbono señalados en la fórmula determinada en FAB-MS. En el experimento DEPT se observaron 8  $CH_3$ , 11  $CH_2$ , 18  $CH$  y 11 átomos de carbono sin hidrógenos unidos. El análisis de las señales de este espectro permitió elucidar que **1** es un glicósido del ácido oleanólico de acuerdo con las siguientes asignaciones.

RMN  $^{13}C$ : 39.486 (C-1), 28.041 (C-2), 78.569 (C-3), 39.878 (C-4), 55.642 (C-5), 18.607 (C-6), 33.110 (C-7), 39.878 (C-8), 47.965 (C-9), 36.904 (C-10), 23.632 (C-11), 1122.837 (C-12), 144.112 (C-13), 42.120 (C-14), 28.041 (C-15), 23.6 (C-16), 46.948 (C-17), 41.724 (C-18), 46.163 (C-19), 30.751 (C-20), 33.974 (C-21), 32.524 (C-22), 28.246 (C-23), 16.849 (C-24), 15.486 (C-25), 17.449 (C-26), 26.093 (C-27), 176.425 (C-28), 33.974 (C-29), 23.7 (C-30).

La comparación de estas señales con aquellas publicadas en la literatura permitió deducir que el ácido oleanólico forma parte de la molécula del compuesto **1**.

Adicionalmente se observaron las siguientes señales:

RMN  $^{13}C$  75.4 MHz ( $C_5D_5C$ ): 107.034 (C'-1), 82.334 (C'-2), 78.906 (C'-3), 72.562 (C'-4), 77.866 (C'-5), 172.665(C'-6).

La comparación de estas señales con aquellas publicadas en la literatura permitió deducir que el ácido glucónico forma parte de la molécula del compuesto **1**

RMN  $^{13}C$  75.4 MHz ( $C_5D_5C$ ): 102.946 (C''-1), 89.205 (C''-2), 77.866 (C''-3), 71.654 (C''-4), 78.906 (C''-5), 62.605 (C''-6).

La comparación de estas señales con aquellas publicadas con la literatura permitió deducir que una molécula de glucosa forma parte de la molécula del compuesto **1**.

Así mismo se observaron las señales asignadas para una molécula de ramnosa. La presencia de estos residuos en **1** fue confirmada por las fragmentaciones observadas en los espectros de masas tanto de impacto electrónico (IE) como el de bombardeo rápido de átomos (FAB-MS).

La identidad de **1** como Ester del 3-O-D-glucuronopiranosil 28-O- $\beta$ -glucopiranosil(1 $\rightarrow$ 4) $\alpha$ -L-ramnopiranosil ácido oleanólico se comprobó por la interacciones mostradas en el espectro de HMBC (figura 11).

Figura 11. Principales interacciones en el espectro de HMBC

### 10.3 Ácido Oleanólico

A una solución metanólica (20 mL) de **1** (200 mg) se le adicionó una solución de HCl al 20% (20 mL). La mezcla de reacción se refluxó durante 3 horas, pasado este tiempo se neutralizó con una solución de NaOH al 10%. La fase acuosa fue extraída con AcOEt (3 X 20 mL) y la fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. El disolvente fue destilado a presión reducida en un rotavapor, obteniéndose 98mg de la mezcla de reacción. La separación de esta mezcla se realizó mediante una cromatografía en una placa preparativa eluída con AcOEt: MeOH (1:1), lo cual permitió el aislamiento de 8.9 mg de ácido oleanólico (Figura 12). La identidad de este compuesto se logró por la comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con aquellos informados en la literatura como ácido oleanólico (Seebacher *et al*, 2003)

**Figura 12.** Estructura química del Ácido oleanólico

## 11. Discusión

Del estudio químico de la nueva especie *S. zopilotensis* podemos concluir que los metabolitos secundarios sintetizados por esta especie, principalmente los glicósidos de triterpenos, son similares a los aislados de otras especies de *Stenocereus*, lo cual apoya la inclusión de esta especie en el género.

Sin embargo el aislamiento del peniocerol, un esteroide aislado por primera vez de especies del género *Stenocereus*, indica que aunque relacionada, con otras especies del género, su química es ligeramente diferente. Cabe hacer notar que este esteroide lo hemos aislado de *Myrtillocactus geometrizans*, lo cual puede tener un interés filogenético, por lo que se requiere realizar más estudios al respecto.

En cuanto a la actividad citotóxica los diferentes extractos mostraron actividad citotóxica en rango de débil a fuerte. El aislamiento del peniocerol y derivados del ácido oleanólico en diversos extractos, de esta especie podrían justificar tanto sus propiedades citotóxicas como antiinflamatorias, ya que es bien sabido las propiedades antiinflamatorias y antitumorales de estos dos metabolitos secundarios.

Este estudio abre la posibilidad de utilizar los metabolitos secundarios presentes en el *Stenocereus zopilotensis* como moléculas prototipo para la obtención de posibles fármacos antiinflamatorios y citotóxicos.

Los resultados de la evaluación citotóxica de los extractos, mostraron que la línea de leucemia (K562) fue la más susceptible de todas las líneas evaluadas, principalmente a los extractos de acetato de etilo (SZPAA), de n-butanol (SZPAB) ambos provenientes de una partición del extracto metanólico de las partes aéreas y el extracto de raíz (SZR).

El único extracto que mostró una baja actividad citotóxica, fue el extracto metanólico de las partes aéreas (SZPAM). Sin embargo, estos resultados indicaban que el extracto metanólico contiene principios citotóxicos tanto no polares, aquellos presentes en el extracto SZPAA así como polares presentes en el extracto SZPAB. Desafortunadamente el poco rendimiento del extracto de acetato de etilo (SZPAA) a partir del extracto metanólico no permitió estudios posteriores. Por otro lado, un análisis de la cromatografía en capa fina (CCF) de los extractos SZPAM y SZPAB indicó que eran mezclas similares. Tomando en cuenta lo anterior se decidió realizar el fraccionamiento mediante una columna cromatográfica del extracto SZPAM.

La separación cromatográfica realizada en columna empacada con gel de sílice y eluidas con disolventes de polaridad creciente permitieron la obtención de 323 fracciones de 250 ml. Por su similitud cromatográfica, mediante análisis en CCF, se

reunieron varias fracciones. De esta manera, de las fracciones eluidas con una mezcla de AcOEt-MeOH (75/25) de la cromatografía de las partes aéreas, se reunieron las fracciones desde 219 hasta 238, obteniéndose 10.63 g de una mezcla denominada **A**. También se reunieron las fracciones de 245 a 283, eluidas con la misma mezcla de disolventes, obteniéndose 4.19 g de una mezcla llamada **B**. (Okazaki *et al*; 2007).

Los resultados de la actividad citotóxica de **A** y **B** mostraron que **B** posee mejor potencial citotóxico arrojando los siguientes resultados para las líneas celulares de cáncer SNC (U251) 100 %, próstata (PC3) 69.80 %, leucemia (K562) 85.76 %, colon (HCT15) 77.79, mama (MCF7) 53.24 %, pulmón (SKUL) 84.89 %.

Sin embargo de manera contrastante **A** mostró una inhibición del edema de 40.12%, mientras que **B** solo mostró un 8.21%.

Con el fin de decidir que fracción debería analizarse primero, se tomo en cuenta los siguientes criterios. Si bien es cierto que aunque la actividad citotóxica de la fracción **A** fue débil su actividad antiinflamatoria fue muy superior a la fracción **B**, que solo mostró actividad citotóxica. Por lo anterior se decidió el análisis cromatográfico de la fracción **A**.

De la reunión **A** obtenida de las fracciones de la columna cromatográfica de SZPAM (ver experimental) se logró aislar el Ester del 3-O-D-glucuronopiranosil 28-O-β-glucopiranosil(1→4)α-L-ramnopiranosil ácido oleanólico. La elucidación estructural de este se logró por métodos químicos y espectroscópicos como se detalla en la parte experimental.

A partir de la purificación de una reacción de hidrólisis a la que fue sometida una alícuota de **A**. Se logró aislar ácido oleanólico (Seebacher *et al*; 2003).

Por otro lado, a partir de la CC del extracto de la raíz se logró aislar peniocerol con un rendimiento de 0.23% (Djerassi *et al*; 1965). La caracterización de los compuestos se efectuó por medio de la comparación de los datos espectroscópicos informados previamente en la literatura.

En estudios previos realizados en el laboratorio se conoce que el ácido oleanólico y el peniocerol tienen actividades antiinflamatorias y citotóxicas, por lo que en este estudio estos compuestos no fueron biológicamente evaluados. (Salazar *et al* 2007; Dzubak *et al* 2006; Kim *et al* 2000; Parra 2006).

La presencia del Ester del 3-O-D-glucuronopiranosil 28-O-β-glucopiranosil(1→4)α-L-ramnopiranosil ácido oleanólico en *S. zopilotensis* está totalmente de acuerdo con los resultados obtenidos del estudio fitoquímico de *S. eruca* especie que también sintetiza glicósidos del ácido oleanólico, estos datos refuerzan la relación filogenética entre ambas especies.

## 12. Conclusiones

Los extractos orgánicos obtenidos de *S. zopilotensis* mostraron actividades antiinflamatoria en el modelo de inhibición del edema inducido por TPA.

Los extractos SZPAA, SZPAB, SZR, mostraron actividad citotóxica selectividad en las líneas de cáncer K-562, HCT15 y SKUL.

El extracto SZPA demostró mayor potencial antiinflamatorio que el resto de los extractos y un menor potencial en la evaluación de citotoxicidad que el resto de los extractos.

La mezcla de compuestos (B) fue citotóxica en todas la líneas de cáncer humano en las que fue evaluado y por el contrario no mostró actividad antiinflamatoria en el ensayo de edema inducido por TPA.

La mezcla de compuestos (A) mostró un alto porcentaje de inhibición del edema en la prueba de TPA y por el contrario un contrario un bajo potencial citotóxico en las líneas en las líneas de cáncer humano en las fue evaluado.

La cromatografía del extracto metanólico de las partes aéreas de *S. zopilotensis*, permitió el aislamiento del ácido oleanólico y el Ester del 3-O-D-glucuronopiranosil 28-O-β-glucopiranosil(1→4)α-L-ramnopiranosil ácido oleanólico, el cual constituye una nueva molécula.

La presencia del Ester del 3-O-D-glucuronopiranosil 28-O-β-glucopiranosil(1→4)α-L-ramnopiranosil ácido oleanólico y el acido oleanólico en *S. zopilotensis* refuerza la relación filogenética con otras especies del género *Stenocereus*.

### 13. Literatura citada

- Anaya L. 2003. Ecología Química. Plaza y Valdez, 2º edición México, pp.32-86.
- Anwarul, H. y R. Atta-ur. 2005. Perspective paper: Trends in ethnopharmacology. Journal of Ethnopharmacology 100: 43-49.
- Aravena E. 2007. *Helicobacter* y Cáncer Gástrico, Gastroenterología Latinoamericana, 2: 129-132.
- Arreola H. y T. Terrazas. 2003. Especies de *Stenocereus* con aereolas morenas: claves y descripción. Acta Botánica Mexicana. 64: 1-18.
- Arreola H. y T. Terrazas. 2004. *Stenocereus zopilotensis*. Brittonia. 56: 97-98.
- Azcón J. y M. Talón. 2000. Fundamentos de Fisiología Vegetal, McGraw Hill/Internacional, Barcelona, pp.141-149.
- Banno N. Akihisa T. Tokuda H. Yasukawa K. Higashiara H. Ukiya M. Watanabe K. Kimura Y. Hasegawa J. Nishino H. 2004. Triterpene acids from the leaves of *Perilla frutesces* and their anti-inflammatory and antitumor-promoting effects. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. 68: 85-90.
- Batis A. y M. Rojas. 2002. El Peyote y otros Cactus Alucinógenos de México. Biodiversitas 40: 12-17.
- Bravo-Hollis H. 1978. Las cactáceas de México: Universidad Nacional Autónoma de México XVI. 1:743.
- Britton N. y J. Rose. 1992. The Cactaceae 3. Carnegie Institute, Publication 248, Washington, D. C.
- Bellucci S. 2002. Herbolaria en los Mercados Tradicionales. Revista del Centro de Investigación, Universidad La Salle, México. 5: 63-70.
- Calabresi P. y B. Chabner. Sección X: Quimioterapia de las Enfermedades Neoplásicas. En Hardman, J; *et al* 1996. Goodman y Gilman Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Vol. II. 9º edic. Edit. McGraw Hill/Interamericana.
- Cantrell C. Lu T. Fronzenk F. Fischer N. 1996. Antimycobacterial cycloartanes from *Borrchia frutescens*. Journal of natural products. 59: 1131-1136.
- Chabner B. y T. Roberts. 2005. Chemoterapy and the war on cancer. Nature 5:65-72
- Cotran R. 1995. La mama en patología estructural y funcional, 5ª ed. Madrid, McGraw Hill-Interamericana, pp. 22-24.
- Cragg G. y D. Newman. 2005. Plants as Souerce of Anti-cancer Agents. Journal of Ethnopharmacology. 100: 72-79.
- Djerassi C. Geller L. Lemin A. 1953. Journal of the American Chemical Society.

The Triterpenes of the Cactus *Lemaireocereus Thurberi*. 9: 2254-2256.

•Djerassi C. Geller L. Lemin A. 1954. Journal of the American Chemical Society. The Structures of the Cactus Triterpenes Gummosogenin and Longispinogenin. 16: 4089-4091.

•Djerassi C. Liu L. Farkas A. Lippman A. Geller L. Lemin A. McDonald R. Taylor B. 1954. Journal of the American Chemical Society. Investigation of Nine Cactus Species. Isolation of Two New Triterpenes, Stelatogenin and Machaeric Acid2. 5: 1200-1203.

•Djerassi C. y Lippman A. 1954. Journal of the American Chemical Society. The Structures of the Cactus Triterpenes Machaeric Acid and Machaeric Acid2. 6: 1825-1828.

•Djerassi C. Henry J. Lemin A. Rios T. Thomas H. 1956. Journal of the American Chemical Society. The Structure of the Cactus Triterpene Queretaroic Acid, 15:3783-3787.

•Djerassi C. Murray R. Villotti R. 1965. The structure of de cactus sterol, peniocerol (cholest-8-cholest-8-ene-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ -diol). Journal of the chemical society. 83: 160-165.

• Dzubak P. Hajduch M. Vydra D. Hustova A. Kvasnica M. Biedermann D. Markova L. Urban M. Sarek J. 2006. Pharmacological Activities of Natural Triterpenoids and their Therapeutic Implications. Natural Products. 23: 394-411.

•Espinós D. López A. Calvo E. 2004. Bases farmacológicas y tratamiento de la inflamación, En: Monografía XV, Nuevos avances en medicamentos. Eds. Avendaño, C. y Tamargo J. Real Academia Nacional de Farmacia España. pp.237-286.

•Gibbs J. 2000. Mechanism-Based Target Identification and Drug Discovery. Cancer Research Science. 287: 1969-1973.

•Gibson C. y K. Horak. 1978. Systematic anatomy and phylogeny of Mexican columnar cacti. Ann. Missouri Botanical Garden. 65:999-1057.

•Hartwell J. 1982 Plants Used Against Cancer, Quaterman, Lawrens, MA. pp. 273-277.

•Heinemann, Horst. 1980. "¿De Dónde Viene el Nombre de Cacto?", en Cactáceas y Suculentas Mexicanas. 7: 27-32.

•Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática Estadísticas a Propósito del Día Mundial Contra el Cáncer Datos Nacionales. [www.inegi.gob.mx](http://www.inegi.gob.mx) , marzo 2008.

•Jordan M. y L. Wilson. 2004. Microtubules as target for anticancer drugs. Nature Review. 4: 253-265.

•Karin. M. 2006. NF- $\kappa$ B and cancer: Mechanisms and targets. Molecular Carcinogenesis. 45:355-361.

•Katzung B. 1986. Farmacología Básica y Clínica, Ed. Manual Moderno, México,

pp.1011-1013.

- Kinoshita K. Yang Y. Yama T. Takizawa T. Koyama K. Takashi K. Yuasa H. Kondo N. Nishino H. 1998. New triterpene saponins from cacti and their biological activities. *Tennen Yuki Kagobutsu Toronkai Koen Yoshishu*. 40: 359-364.
- Lawrence T. Willoughby D. Gilroy D. 2002. Anti-inflammatory Lipid Mediators and Insights into the Resolution of Inflammation. *Nature Reviews Immunology*. 2:787-795.
- Malgor L. y M. Valsecchia. 2000. Prostaglandinas y sus productos relacionados. *Farmacología Médica*. 4: 93-111.
- Mann J. 2002. Natural Products in Cancer Chemotherapy: past, present and future. *Nature Reviews*. 2: 143-148.
- Mandujano M. Gulov M. Reyes L. 2002. Lo que siempre quiso saber sobre las cactáceas y nunca se atrevió a preguntar. *Biodiversitas*. 40: 4-7.
- Martínez M. Las plantas medicinales de México. 1996. México D.F. Botas; 6ta. Ed. P. 656.
- Martínez M. y A. García. 2001. Phytochemical Studies and Biological Evaluations of Some Mexican Plants En "Recent Developments in Phytochemistry" Ed. Research Signpost Trivandrum, India. pp59-85.
- Martínez M. y H. Parra. 2007. Natural Products as Potential Anti-cancer Agents. En "Advances in Cancer Research at UNAM", Ed. Jaime Mas-Oliva, Co-Ed. Jesús Ninomiya-Alarcón, Alejandro García-Carrancá, Ed. Manual Moderno, México.
- Moore M. y G. Goldenber. 1998. Fármacos antineoplásicos. En Kalant H. y W. Roshlau. *Principios de Farmacología Clínica*. Oxford University press México, 6ª edición.
- Nathan C. 2002. Points of Control in Inflammation. *Nature*. 420: 846-852.
- Newman D. Cragg G. Snader K. 2003. Natural Products of New drugs Over Period 1981-2002. *Journal of Natural Products*. 66: 1022-1057.
- Okazaki S. Kinoshita K. Koyama K. Takahashi K. Yuasa H. 2007. New triterpene Saponins From *Stenocereus eruca* (Cactaceae). *Journal of Nature Medicine*. 61:24-29.
- Parra H. 2006. Tesis doctoral "Obtención de Compuestos Citotóxicos a Partir de Triterpenos del Tipo Cicloartano" Programa de Doctorado en Ciencias Químicas. UNAM.
- Parra H. Compadre C. Ramírez T. Muñoz J. Compadre L. Ostrosky P. Martínez M. 2005. Synthesis and Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA) of Argentinina B Derivatives as Growth Inhibitors of Human Cancer Cell Lines.
- Parra H. García F. Sordo M. Ramírez T. Martínez M. Ostrosky P. 2005. Evaluation of the cytotoxicity, cytostaticity and genotoxicity of argentinins A and B from *Parthenium argentatum* (Gray). *Life Sciences*. 77: 2855-2865.

- Salazar J. Guadarrama L. Nieto A. Martínez M. 2007. “Esteroles Antiinflamatorios Aislados del Extracto Hexánico de Raíz de *Myrtillocactus geometrizans* (Martius) Console”. 4ta Reunión Nacional de Investigación en Productos Naturales. Monterrey, Nuevo León, México. Mayo 16-18.
- Swain. T (editor). 1973. Chemistry in evolution and systematics. Butterworth, Londres.
- Seebacher W. Simic N. Weis R. Kunert O. 2003. Complete Assignments of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR resonances of oleacnic acid and their 11-oxo derivatives. Magnetic Resonance in Chemistry. 40: 636-638.
- Setzer W. y M. Setzer. 2003. Plant-Derived Triterpenoids as potential Antineoplastic Agents. Mini-Review in Medicinal Chemistry. 3: 540-556.
- Syrovets T. Buchele B. Gedig E. Slupsky JR. Simmet T. 2000. Acetyl-boswellic acids are catalytic inhibitors of human topoisomerases I and II. Molecular Pharmacology. 58: 71-78.