



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Efecto de extractos de *Momordica charantia* en la modulación del estrés oxidativo en modelos de cáncer.

Tesis

**Que para obtener el título de
Licenciado en Biología**

Presenta:

Javier Rodríguez Villegas

Directora de tesis

M. en C. Catalina Machuca Rodríguez

Asesor Interno

M. en C. Ernesto Mendoza Vallejo



Ciudad de México, 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme estudiar en sus instalaciones y darme la oportunidad así como las herramientas para aprender y obtener muchos conocimientos y poder formarme como Biólogo.

A la maestra Catalina Machuca Rodriguez por permitirme participar en este proyecto con el que aprendí mucho y por darme la oportunidad de realizarlo en su laboratorio, así como por facilitarme las herramientas para llevarlo a cabo. También al profesor Ernesto Mendoza Vallejo por todo el apoyo que me brindo y por los consejos que me dio, los cuales me ayudaron durante todo este proceso.

A mis padres Filomena Villegas Diaz y Santiago Rodriguez Diaz, que me dieron todo para poder llevar a cabo mis estudios, me apoyaron económicamente y moralmente durante todo este proceso, yo siempre estaré muy agradecido porque sé que sin ustedes no estaría donde estoy y no sería la persona que soy, me han guiado siempre y soy feliz de tenerlos a mi lado. También a mis hermanos que me ayudaron cuando tenía alguna dificultad así como a mi sobrino que siempre estuvo allí conmigo a pesar de todo.

A mi mejor amiga Yessica Jazmin Angeles Flores que es una de las personas más importantes en mi vida, que durante todo el tiempo que llevo de conocerla me ha ayudado en temas escolares y personales, sé que vamos a seguir siendo amigos y me alegro de haberte conocido. A todos los compañeros que se convirtieron en mis amigos, Andrea Ontiveros, Diana Ocampo, Carlos David, que pesar de que nos hayamos distanciado siempre los tendré en mente y recordare lo mucho que me ayudaron.

A las personas de la comunidad de Limón Chiquito que nos recibieron y ayudaron para que este proyecto se consiguiera de la mejor manera, especialmente a la familia de la señora Verónica Ramírez que sin duda fue una persona importante en la realización de este trabajo.

A todos los profesores que a lo largo de mi carrera me brindaron muchos conocimientos y que me enseñaron a ser mejor como persona y como estudiante.

Índice

1. Abreviaturas
2. Resumen
3. Marco teórico
 - 3.1. Radicales libres
 - 3.1.1. Especies reactivas de oxígeno
 - 3.1.2. Especies reactivas de nitrógeno
 - 3.2. Estrés oxidativo
 - 3.2.1. Daño del estrés oxidativo
 - 3.2.1.1. Lipoperoxidación
 - 3.2.1.2. Oxidación del ADN
 - 3.3. Cáncer
 - 3.3.1. Carcinogénesis
 - 3.3.2. Cáncer de mama
 - 3.3.3. Estrés oxidativo y cáncer de mama
 - 3.4. Sistema antioxidante
 - 3.4.1. Antioxidantes enzimáticos
 - 3.4.1.1. Catalasa
 - 3.4.2. Antioxidantes no enzimáticos
 - 3.4.2.1. Metabolitos secundarios
 - 3.4.2.1.1. Compuestos fenólicos
 - 3.4.2.1.2. Flavonoides
 - 3.4.2.1.3. Taninos
 - 3.4.2.1.4. Esteroles
 - 3.4.2.1.5. Saponinas
 - 3.4.2.1.6. Cumarinas
 - 3.4.2.1.7. Alcaloides
 - 3.4.2.1.8. Quinonas
 - 3.4.2.1.9. Sesquiterpenlactonas
 - 3.5. Tratamiento antioxidante
 - 3.5.1. Estudio de plantas medicinales
 - 3.5.1.1. Fitoquímica
 - 3.5.1.2. Etnobotánica
 - 3.6. *Momordica charantia*
 - 3.6.1. Descripción
 - 3.6.2. Origen y distribución
 - 3.6.3. Usos (Etnobotánica)
 - 3.6.4. Estudios fitoquímicos
 - 3.6.5. Actividad biológica
 - 3.6.6. Actividad anticancerígena
4. Justificación
5. Hipótesis

6. Objetivo general
 - 6.1. Objetivos particulares
7. Zona de estudio
8. Metodología
 - 8.1. Estudio etnobotánico
 - 8.2. Recolección de la muestra
 - 8.3. Extracción
 - 8.4. Cuantificación de metabolitos primarios
 - 8.4.1. Proteínas
 - 8.4.2. Carbohidratos
 - 8.5. Identificación de metabolitos secundarios
 - 8.5.1. Compuestos fenólicos
 - 8.5.2. Flavonoides
 - 8.5.3. Taninos
 - 8.5.4. Esteroles
 - 8.5.5. Saponinas
 - 8.5.6. Cumarinas
 - 8.5.7. Alcaloides
 - 8.5.8. Quinonas
 - 8.5.9. Sesquiterpenlactonas
 - 8.6. Cuantificación de metabolitos secundarios
 - 8.6.1. Compuestos fenólicos
 - 8.6.2. Flavonoides
 - 8.6.3. Taninos
 - 8.6.4. Esteroles
 - 8.6.5. Saponinas
 - 8.6.6. Cumarinas
 - 8.6.7. Alcaloides
 - 8.6.8. Quinonas
 - 8.6.9. Sesquiterpenlactonas
 - 8.7. Cuantificación de la actividad antioxidante
 - 8.8. Marcadores de estrés oxidativo
 - 8.8.1. Diseño experimental
 - 8.8.2. Inducción con DMBA
 - 8.8.3. Tratamiento
 - 8.8.4. Sacrificio y obtención de muestras
 - 8.8.5. Cuantificación de nitritos
 - 8.8.6. Cuantificación de lipoperoxidación
 - 8.8.7. Cuantificación de la actividad de catalasa
9. Resultados
 - 9.1. Estudio etnobotánico
 - 9.2. Estudio fitoquímico
 - 9.2.1. Identificación de metabolitos secundarios
 - 9.2.1.1. *In situ*

- 9.2.1.2. Por diluciones seriadas
- 9.2.2. Cuantificación de metabolitos secundarios
- 9.2.3. Cuantificación de metabolitos primarios
- 9.2.4. Cuantificación de la actividad antioxidante
- 9.3. Evaluación *in vivo* de la actividad anticancerígena
 - 9.3.1. Cuantificación de proteínas en sangre
 - 9.3.2. Cuantificación de proteínas en hígado
 - 9.3.3. Cuantificación de nitritos en sangre
 - 9.3.4. Cuantificación de nitritos en hígado
 - 9.3.5. Actividad de catalasa en hígado
 - 9.3.6. Evaluación de lipoperoxidación en sangre
 - 9.3.7. Evaluación de lipoperoxidación en hígado

Índice de figuras

Figura 1. Reacciones de Haber-Weiss y Fenton

Figura 2. Dinámica de los radicales libres en sistemas biológicos

Figura 3. A) Reacción catalítica y B) reacción peroxidativa de la catalasa

Figura 4. Rutas de síntesis de metabolitos secundarios a partir del
metabolismo primario

Figura 5. Morfología de *Momordica charantia*

Figura 6. Distribución de *M. charantia*

Figura 7. Localidad Limón chiquito, municipio Cazones de Herrera Ver

Figura 8. Usos medicinales de *M. charantia*

Figura 9. Cuantificación de alcaloides en *M. charantia*

Figura 10. Cuantificación de cumarinas en *M. charantia*

Figura 11. Cuantificación de esteroides en *M. charantia*

Figura 12. Cuantificación de fenoles en *M. charantia*

Figura 13. Cuantificación de flavonoides en *M. charantia*.

Figura 14. Cuantificación de quinonas en *M. charantia*

Figura 15. Concentración de sesquiterpenlactonas en extractos de *M. charantia*

Figura 16. Concentración de taninos en *M. charantia*.

Figura 17. Concentración de saponinas en extractos de *M. charantia*.

Figura 18. Concentración de metabolitos secundarios presentes en *M. charantia*

Figura 19. Concentración de proteínas en *M. charantia*.

Figura 20. Concentración de lípidos en extractos de *M. charantia*

Figura 21. Concentración de carbohidratos totales, reductores y no
reductores en *M. charantia*

Figura 22. Porcentaje de inhibición del radical DPPH por *M. charantia*

Figura 23. Tumores del ratón perteneciente al grupo tratado con tallo acuoso.

Figura 24. Tumor presente en un ratón en el grupo tratado con hoja acuosa.

Figura 25. Efecto de *M. charantia* en la concentración de proteínas en sangre
(mg/mL).

Figura 26. Efecto de *M. charantia* en la concentración de proteínas en hígado (mg/ml).

Figura 27. Efecto en la concentración de nitritos de los extractos de *M. charantia* en hígado (μM).

Figura 28. Concentración de nitritos en sangre (μM).

Figura 29. Actividad de catalasa en hígado

Figura 30. Cuantificación de lipoperoxidación en sangre.

Figura 31. Cuantificación de lipoperoxidación en sangre.

Índice de cuadros

Cuadro 1. Principales antioxidantes

Cuadro 2.- Estudios fitoquímicos en extractos de *M. charantia*

Cuadro 3. Formación de grupos experimentales.

Cuadro 4.- Estudio etnobotánico de *M. charantia* en la comunidad de
Limón chiquito Ver. México

Cuadro 5.- Nombres de *M. charantia* en Limón chiquito y Plan de limón

Cuadro 6.- Resultados de la identificación de metabolitos secundarios *in situ*.

Cuadro 7.- Identificación de metabolitos secundarios por diluciones seriadas en
extractos acuosos.

Cuadro 8.- Identificación de metabolitos secundarios por diluciones seriadas en
extractos hidroalcohólicos

Cuadro 9. Actividad antioxidante de *M. charantia*

1. Abreviaturas

µg:	Microgramos
µL:	Microlitros
CAT:	Catalasa
DMBA:	7,12-dimetilbenzo[a]antraceno
ERN:	Especies reactivas de nitrógeno
ERO:	Especies reactivas de oxígeno
Msnm:	Metros sobre el nivel del mar
MDA:	Malondialdehído
mg:	Miligramos
mM:	Milimolar
N:	Nitrógeno
NADPH:	Nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato
NO•:	Óxido de nitrógeno
NO ₂ :	Dióxido de nitrógeno
NO ₃ :	Nitrato
O ₂ :	oxígeno molecular
O ₂ •:	Anión superóxido
O ₃ :	Ozono
OH ⁻ :	Ion hidroxilo
RL:	Radicales libres
SOD:	Superóxido dismutasa
UV:	Radiación ultravioleta



1. Resumen

Momordica charantia forma parte de la familia Cucurbitaceae es una planta trepadora que crece de manera natural sobre arbustos, paredes, árboles y ocasionalmente es cultivada. Se distribuye mayormente en la zona tropical, principalmente en África, Asia y América central. En México se tiene registro de esta especie en los estados de Baja California Sur, Campeche, Chiapas, Colima, Jalisco, Morelos, Nayarit, Tabasco, Veracruz y Yucatán. Esta planta ha sido utilizada en la medicina tradicional en el tratamiento de distintas enfermedades como el cáncer, diabetes, ictericia, neumonía, fiebre reumático, malaria, además, presenta actividad analgésica, antiinflamatoria, hipoglucemiante, cicatrizante y antioxidante, entre otros.

Se ha establecido una relación entre el origen del cáncer con el estrés oxidativo, debido a la producción de mutaciones causadas por los radicales libres, así como por la participación de estos en vías de señalización que promueven la supervivencia, proliferación e invasión de las células cancerígenas.

Bajo este principio, el objetivo de este estudio consistió en determinar el efecto de la capacidad antioxidante de los extractos acuosos e hidroalcohólicos de *M. charantia* en un modelo murino de cáncer de mama, mediante la evaluación de marcadores de estrés oxidativo.

Se realizó un estudio etnobotánico en la comunidad de Limón chiquito en el estado de Veracruz, se recolectaron muestras de la especie para realizar pruebas de identificación y cuantificación de metabolitos secundarios (fenoles, flavonoides, quinonas, taninos, alcaloides, esteroides, saponinas, sesquiterpenlactonas, cumarinas) así como la actividad antioxidante por el método del radical DPPH. Se analizaron 3 marcadores de estrés oxidativo (concentración de nitritos, actividad de catalasa, cuantificación de lipoperoxidación).

De acuerdo a la información obtenida por medio de entrevistas etnobotánicas el principal uso de esta especie es para el tratamiento de la diabetes, así como en el tratamiento de enfermedades en la próstata, riñones y presión arterial. Se identificaron 9 metabolitos (fenoles, quinonas, flavonoides, saponinas, alcaloides, esteroides, sesquiterpenlactonas, taninos y cumarinas), siendo las saponinas, fenoles y esteroides lo de mayor concentración.

La actividad antioxidante demostró ser mejor en los extractos hidroalcohólicos, así como, las partes con mejor actividad antioxidante son las hojas y los tallos.

El extracto de tallo aumento la concentración de nitritos en hígado en condiciones normales, mientras que, en condiciones de estrés oxidativo los niveles de nitritos se mantuvieron bajos.

Los extractos de planta completa y hoja disminuyeron los niveles de nitritos en condiciones normales, sin embargo, en condiciones de estrés aumentaron la concentración de nitritos.



2. Marco teórico

3.1. Radicales libres

Los radicales libres se caracterizan por tener un electrón no apareado en uno de sus orbitales atómicos, haciéndolos inestables y altamente reactivos, debido a que donan o reciben electrones de otras moléculas, funcionando como oxidantes o reductores (Lobo, 2010).

Los radicales libres surgen dentro del cuerpo humano, como consecuencia de procesos metabólicos esenciales como reacciones enzimáticas (cadena respiratoria, la fagocitosis y por el sistema del citocromo P-450), también se pueden obtener de fuentes externas a los organismos (Lobo, 2010).

De acuerdo con Saikat Sen (2010) las fuentes de radicales libres son las siguientes:

- Radiaciones UV, rayos X y microondas.
- Reacciones catalizadas por metales.
- Radicales libres presentes en la atmósfera.
- Procesos inflamatorios
- Neutrófilos estimulados por la exposición a microorganismos
- Reacciones de transporte de electrones de la mitocondria
- Interacción con productos químicos como gases producidos por los automóviles, cigarros, así como los gases provenientes de incendios y actividad volcánica.
- Consumo de alcohol y ciertas drogas, además del contacto con efluentes industriales, asbesto, pesticidas, herbicidas, algunos iones metálicos y xenobióticos.

Los radicales libres se clasifican de acuerdo al grupo funcional presente en las moléculas como bromo, nitrógeno, fosforo, oxígeno, cloro. Sin embargo, las especies reactivas de oxígeno (EROs) son las más comunes y de mayor relevancia en los procesos celulares.

3.1.1. Especies reactivas de oxígeno.

Las especies reactivas de oxígeno (EROs) son formas parcialmente reducidas o activadas del oxígeno atmosférico (O_2) (Choudhury, 2017), son capaces de aceptar electrones de otras moléculas, afectando la estructura o función de macromoléculas e interfiriendo con el funcionamiento normal de la célula (García, 2015). Sin embargo estos compuestos también cumplen una función en los procesos fisiológicos, como en la producción de energía, la síntesis de compuestos, la traducción de señales (Carrillo, 2016), regulan procesos como la secreción de insulina, la producción de hormonas de crecimiento, la actividad de proteínas transportadoras y canales de iones, favorecen la unión de las proteínas G a sus receptores (Macedo, 2012), participan en la activación de vías de



señalización celular relacionadas con el desarrollo y la proliferación celular debido a que son capaces de imitar y amplificar la acción de los factores de crecimiento (Bartosz, 2009).

Las EROs de mayor importancia en los procesos fisiológicos son el anión superóxido, radical hidroxilo y el peróxido de hidrógeno. El anión superóxido se forma por la adición de un electrón al oxígeno molecular, este proceso es mediado por nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP) oxidasa y por el sistema mitocondrial de transporte de electrones, posteriormente este anión superóxido es convertido a peróxido de hidrógeno por las superóxido dismutasas (SODs) (Birben, 2012).

El peróxido de hidrógeno se decompone al radical hidroxilo, a través de las reacciones Haber-Weiss y Fenton (Figura 1) con la presencia de metales de transición como el Fe^{2+} o Cu^{2+} (Birben, 2012). En la reacción de Fenton el peróxido de hidrógeno interactúa con el hierro formando un anión hidroxilo y un radical hidroxilo, mientras que en la reacción de Haber-Weiss, el radical superóxido reacciona con el peróxido de hidrógeno que en presencia de hierro como catalizador forma oxígeno, un anión hidroxilo y un radical hidroxilo (Carrillo, 2016).

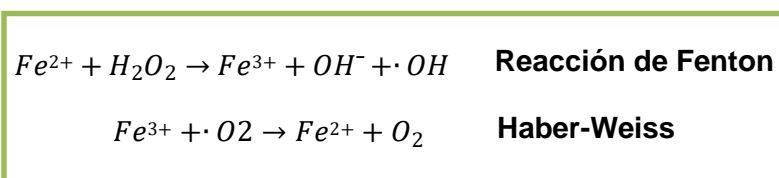


Figura 1. Reacciones de Haber-Weiss y Fenton

3.1.2. Especies reactivas de nitrógeno.

En condiciones de hipoxia, la cadena respiratoria mitocondrial produce óxido nítrico (ON), una molécula de señalización necesaria en procesos biológicos como el control de la presión sanguínea, la inhibición de la agregación plaquetaria y en procesos de neurotransmisión (Pedraza, 2006), es el precursor de las especies reactivas de nitrógeno (ERN) (García, 2015). Algunas de las funciones del óxido nítrico son: participa en la lipoperoxidación, donde reacciona con los lípidos sustrayendo un átomo de H, el ON tiene un papel dual actuando como pro-oxidante cuando reacciona con O_2 para producir ONO^- y como antioxidante al reaccionar directamente con los radicales formados durante la lipoperoxidación (Pedraza, 2006).

Las ERN son un grupo diverso de compuestos, que pueden ser o no radicales libres, debido a que no todos poseen un electrón desapareado; se producen de forma constitutiva y presentan propiedades distintas (Gupta, 2014).



Entre las especies reactivas de nitrógeno se incluyen el peroxinitrito (ONOO^-), el ácido peroxinitroso (ONOOH), el dióxido de nitrógeno (NO_2), el trióxido de di-nitrógeno (N_2O_3), entre otros.

3.2. Estrés oxidativo

El concepto de estrés oxidativo fue propuesto en 1985 por Sies H. quien lo definió como: “Una alteración en el equilibrio pro-oxidantes y antioxidantes a favor de los primeros”, sin embargo, este concepto fue adaptado en 2007 para incluir el papel de la señalización redox: “El estrés oxidativo es un desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes que provoca la interrupción del control redox y provoca daño molecular” (Sies, 2016).

Algunas de las causas por las cuales se produce el estrés oxidativo son:

- 1) Mayor nivel de compuestos endógenos y exógenos que ingresan a la auto-oxidación produciendo radicales libres,
- 2) Agotamiento de las reservas antioxidantes de bajo peso molecular,
- 3) Inactivación de enzimas antioxidantes,
- 4) Disminución en la producción de enzimas antioxidantes y de antioxidantes de bajo peso molecular

La dinámica de los procesos relacionados con los niveles de radicales libres se muestra en la Figura 2. Bajo condiciones normales los niveles de radicales libres se mantienen en concentraciones normales. Sin embargo, pueden aumentar debido a una sobreproducción; si el potencial antioxidante es alto, los niveles de radicales pueden reducirse rápidamente al rango normal (estrés oxidativo agudo), pero si el potencial antioxidante no es capaz de controlar los niveles de radicales, la célula necesitará aumentar sus defensas antioxidantes, pero requerirá de tiempo y energía, provocando un estado de estrés oxidativo crónico. En algunos casos los niveles de radicales libres no vuelven al rango inicial y el sistema se estabiliza en un nuevo nivel más alto, denominado cuasi-estacionario (Lushchak, 2014).



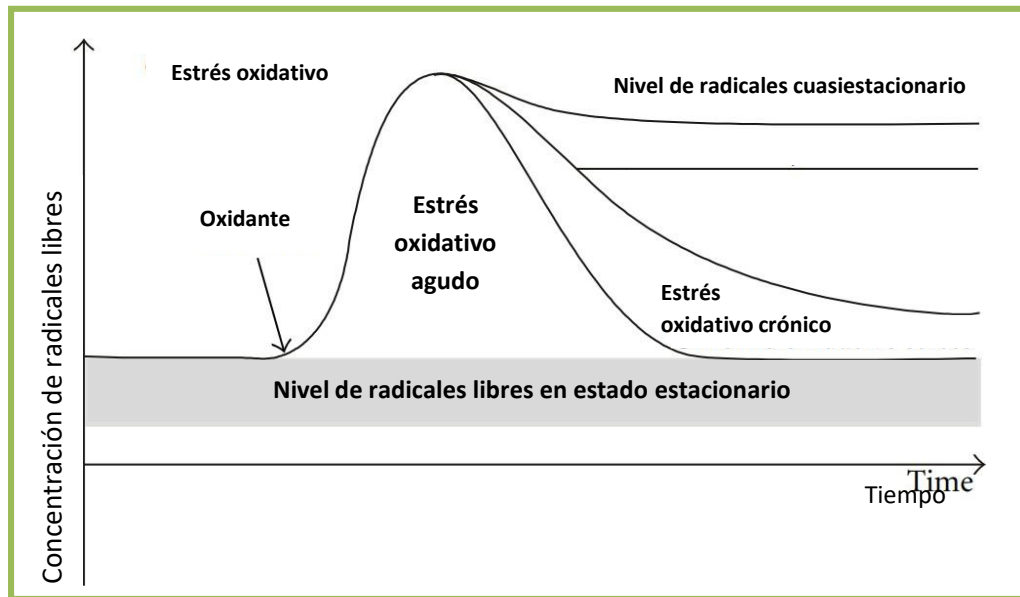


Figura 2. Dinámica de los radicales libres en sistemas biológicos (Modificado de Lushchak, 2014).

Las consecuencias del estrés oxidativo son alteraciones en la función de cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado (Venereo, 2002).

3.2.1. Daño del estrés oxidativo

Es el daño aleatorio e indiscriminado a biomoléculas, causado por los radicales libres (Halliwell, 2007), que provoca daños estructurales en el ADN que resultan en la modificación de proteínas y lípidos, la activación de diversos factores de transcripción inducidos por estrés y en la producción de citosinas pro y antiinflamatorias (Birben, 2012).

Las enfermedades causadas por el daño oxidativo se pueden clasificar en dos grupos:

- 1 Las generadas por pro-oxidantes que modifican el estado redox y alteran la tolerancia a la glucosa, que favorece a las enfermedades como el cáncer, la diabetes mellitus, entre otras.
- 2 Las causadas por estrés de tipo inflamatorio, como la aterosclerosis y la inflamación crónica.

Se ha propuesto que la oxidación de biomoléculas durante el estrés oxidativo repercute directamente en el proceso del envejecimiento (Sánchez, 2013).

3.2.1.1. Lipoperoxidación

Si bien todas las biomoléculas pueden ser oxidadas por los radicales libres, en los lípidos se produce el mayor daño (lipoperoxidación) al afectar las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados y alterando la permeabilidad de la membrana celular con la consecuente producción de edema y muerte celular (Venereo, 2002).

La peroxidación lipídica consta de tres pasos: iniciación, propagación y terminación. En la etapa de iniciación los radicales libres como el radical hidroxilo abstraen el hidrógeno de los lípidos formando el radical lipídico, que en la fase de propagación reacciona con el oxígeno para formar un radical peróxi-lípido, el cual extrae un hidrógeno de otra molécula lipídica generando un nuevo radical lipídico y el hidroperóxido lipídico, finalmente en la etapa de terminación los antioxidantes donan un átomo de hidrogeno a los radicales lipídicos formando productos no radicales (Ayala, 2014).

De algunos de los productos de la lipoperoxidación se obtienen lípidos peroxidados que al degradarse originan nuevos radicales libres y compuestos citotóxicos como hidrocarburos gaseosos y aldehídos, estos compuestos son altamente reactivos y pueden considerarse como segundos mensajeros tóxicos que difunden y aumentan los eventos iniciales de los radicales libres, los aldehídos más estudiados son el 4-hidroxinonal (4-HNE) y malondialdehído (MDA), este último es un aldehído de tres carbonos altamente reactivo (Fagali, 2011; Chihuailaf, 2002).

Los factores que influyen en la magnitud del proceso de peroxidación lipídica son:

- a) La naturaleza cualitativa y cuantitativa del agente inicializador.
- b) El contenido de ácidos grasos polinsaturados en la membrana y su accesibilidad.
- c) El contenido celular de antioxidantes (betacarotenos, alfatocoferoles, glutatión, entre otros).
- d) La activación de enzimas antioxidantes como el glutatión peroxidasa (GSH-Prx).

Una de las moléculas más relacionadas con la lipoperoxidación es el óxido nítrico, ya que reacciona con los lípidos quitándoles un átomo de H, desencadenando el proceso de lipoperoxidación (Pedraza, 2006).

3.2.1.2. Oxidación del ADN

El ADN es también un blanco de ataque de los radicales libres, principalmente el mitocondrial. Sin embargo, las alteraciones que pueda sufrir serán significativas en la medida que sean intensas y capaces de eludir los sistemas de reparación antes de que ocurra la replicación (Chihuailaf, 2002).

Con la oxidación del ADN ocurren fenómenos como mutaciones, pérdida o ganancia de expresión, modificaciones oxidativas de las bases, deleciones, fragmentaciones, reordenamientos cromosómicos, desmetilación de citosinas que activan genes, así como la



inactivación o pérdida de algunos genes supresores que pueden conducir a la carcinogénesis (Venereo, 2002).

3.3. Cáncer

El cáncer constituye un grupo heterogéneo de enfermedades que se caracterizan por la acumulación de mutaciones en el genoma de las células, afectando funciones y procesos a nivel molecular, celular, tisular y sistémico (Pérez, 2017). Representa una de las principales patologías que afectan a la población mundial. En el año 2018 de acuerdo con la OMS se registraron 18.1 millones de nuevos casos y 9.6 millones de muertes a causa de esta enfermedad, situándola como una de las principales causas de muerte alrededor del mundo. El incremento en el número de casos se atribuye a diversos factores incluyendo el crecimiento poblacional, el envejecimiento de la población, así como la difusión de agentes carcinógenos que se encuentran en el medio ambiente y la prevalencia de causas vinculadas al desarrollo económico y social (Oliva, 2015; OMS, 2018).

Otros factores se asocian con estilos de vida poco saludables, predisposición genética, infecciones por algunos virus, exposición a productos químicos, radiaciones ionizantes, infecciones, entre otros. Se considera que estos factores interactúan de manera multifactorial y secuencial que resulta en la formación de tumores malignos (Oliva, 2015; Goldman, 2014).

Además, las alteraciones en los genes que codifican ciertos antioxidantes están asociadas con el incremento en la proliferación y progresión del cáncer; por lo que, pueden provocar pérdida o ganancia de funciones dependiendo del tipo celular, gen y la función del gen en cuestión y aumentar o disminuir la capacidad antioxidante.

El tejido cancerígeno está constituido por células cuya morfología se encuentra alterada, por lo que se cree que la causa de esta enfermedad yace en lesiones celulares. El cáncer es considerado como un desorden de células que se dividen de forma anormal, lo que conlleva a la formación de agregados que dañan tejidos vecinos, estas células tienen la capacidad de migrar e invadir tejidos lejanos, produciendo metástasis (Sánchez, 2013).

En el 2011 Hanahan y Wienberg propusieron seis “hallmarks” o rasgos distintivos del cáncer que representan alteraciones esenciales en la fisiología celular y determinan colectivamente el desarrollo del cáncer, estos son:

- Mantener la señalización de proliferación
- Insensibilidad a las señales de inhibición del crecimiento
- Potencial de replicación ilimitado
- Angiogénesis
- Invasión de tejido
- Metástasis

Posteriormente en el año 2011 se agregaron otros cuatro rasgos distintivos:

- Desregulación energética



- Evasión de la respuesta inmunitaria
- Promoción de procesos inflamatorios
- La inestabilidad genética

3.3.1. Carcinogénesis

Se denomina carcinogénesis al proceso por el cual, las células normales se transforman en células cancerosas, dicha transformación se origina por alteraciones del material genético y les otorgan la capacidad de dividirse a una tasa mayor y generar una descendencia que conserve estas alteraciones con ventajas proliferativas (Sánchez, 2013)

Según Martín de Civetta M. (2011), la carcinogénesis se lleva a cabo en tres etapas bien definidas que son: iniciación, promoción y progresión.

- Iniciación

Este proceso ocurre a nivel del genoma, se producen mutaciones causadas por agentes físicos, químicos o virales. Los agentes físicos y químicos afectan las bases nitrogenadas del ADN, alteran su estructura, producen mutaciones y estimulan factores de crecimiento. Mientras que, los agentes virales activan genes que aumentan el crecimiento de tumores. Para que las mutaciones producidas puedan desarrollar el proceso de carcinogénesis, deben ser superiores a las mutaciones que se producen en los procesos normales de las células (Lawrence, 2011).

Dentro del genoma humano existen genes relacionados con el desarrollo de tumores (protooncogenes), normalmente estos genes están relacionados con el crecimiento y proliferación de las células. Sin embargo, cuando sufren mutaciones se denominan oncogenes y permiten a las células cancerosas proliferar, favoreciendo la carcinogénesis (Sánchez, 2013).

- Promoción

Esta etapa se caracteriza por el crecimiento tisular y el comienzo de la angiogénesis, causado por la participación de factores de crecimiento que actúan como facilitadores de la mitosis y de la degradación de las matrices extracelulares. La angiogénesis es el proceso por el cual se forman nuevos vasos a partir de una red vascular preexistente, es necesaria para que todas las células tengan suministro de oxígeno y nutrientes, así como un sistema de eliminación de productos del catabolismo (Jimeno, 2016).

- Progresión

En esta etapa está implicada la capacidad de invadir tejidos vecinos o a distancia por parte de las células tumorales, en condiciones normales existen moléculas de adhesión que las mantienen juntas y permiten la transmisión de señales de una a otra, por lo cual las células se encuentran ancladas en un lugar específico. Sin embargo, las células tumorales tienen la característica de no estar fijas y pueden introducirse a los capilares sanguíneos para invadir otros órganos del cuerpo.



3.3.2. Cáncer de mama

El cáncer de mama (adenocarcinoma) es una enfermedad maligna en donde la proliferación acelerada, desordenada y no controlada de células pertenecientes a distintos tejidos de la glándula mamaria, forman un tumor que invade los tejidos vecinos y órganos distantes del cuerpo (Martínez, 2007). Representa al tipo de cáncer más común y la principal causa de mortalidad en mujeres a nivel mundial. Algunos factores de riesgo asociados con el desarrollo del cáncer de mama son: la edad, antecedentes médicos personales o familiares, la predisposición genética, la obesidad, la menopausia tardía, la ausencia de embarazo o embarazo tardío, exposición a contaminantes ambientales y factores relacionados con el estilo de vida como el consumo de alcohol, la falta de actividad física, entre otros (Shah, 2014).

La clasificación histopatológica de los carcinomas mamarios de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) se divide en no invasores (*in situ*), invasores y otros. El tipo histológico más frecuente es el carcinoma ductal invasor que representa del 70 al 80% de los casos, el segundo más común es el lobulillar invasor (5-10%), difícil de diagnosticar por su diseminación difusa en vez de formar una masa. Otros tipos de cáncer menos comunes son el tubular, medular, mucinoso y papilar, entre otros (Castellanos, 2009).

3.3.3. Estrés oxidativo y cáncer de mama

El papel del estrés oxidativo en la carcinogénesis no está limitado a mutaciones en el ADN, también actúa en la activación de vías de señalización (Reuter, 2010), ya que una de las funciones de los radicales libres es actuar como segundo mensajero y activar vías que promuevan la supervivencia, proliferación e invasión de las células cancerígenas. También, ha sido demostrado que en pacientes con cáncer de mama disminuyen los niveles de antioxidantes, lo que conduce a un aumento de EROs y a la acumulación significativa de mutaciones.

El aumento de radicales libres durante el proceso de estrés oxidativo provoca una respuesta inflamatoria crónica, a través del aumento en los niveles del factor de necrosis tumoral α (TNF α). En tejidos cancerígenos de mama se ha encontrado evidencia de esta inflamación provocado por el estrés oxidativo lo que confirma la participación de los radicales libres en el desarrollo del cáncer de mama (Devi, 2014).

3.4. Sistema antioxidante

Para contrarrestar el daño oxidativo, los organismos poseen sistemas de defensa antioxidante que son un conjunto de componentes químicos o biológicos que contrarrestan de manera directa o indirecta los efectos nocivos de los radicales libres (López, 2012; Sánchez, 2013). Desde un punto de vista fisiológico los antioxidantes se pueden clasificar en:

- Primarios. Previenen la formación de nuevas especies de radicales libres y convierten algunos radicales libre en moléculas menos dañinas.



- Secundarios. Intervienen cuando hay sobreproducción de radicales libres y los sistemas enzimáticos disminuyen, por lo que previenen las reacciones en cadena oxidantes.
- Terciarios. Son los que ejercen su defensa mediante la reparación de biomoléculas dañadas por los radicales libres. (Feduchi, 2010).

Por otro lado, bajo el enfoque de la bioquímica, los antioxidantes se clasifican en enzimáticos y no enzimáticos (Coronado, 2015). A continuación, se muestran algunos de los antioxidantes más importantes (Cuadro 1)

Cuadro 1. Principales antioxidantes			
Enzimáticos		No enzimáticos	
Nombre químico	Acrónimo	Nombre químico	Nombre común
Superóxido dismutasa	SOD	Retinol	Vitamina A
Catalasa	CAT	Ácido ascórbico	Vitamina C
Glutatión peroxidasa	GTPx	α -tocoferol	Vitamina E
Tiorredoxina	TRX	β -Caroteno	---
Peroxirredoxina	PRX	Glutatión	-----
Glutatión peroxidasa	GST		

Modificado de (Birben, 2012)

3.4.1. Antioxidantes enzimáticos

Las enzimas antioxidantes son capaces de estabilizar o desactivar radicales libres antes de que ataquen a los componentes celulares, actúan reduciendo la energía de las especies reactivas o donándoles un electrón haciéndolos estables, interrumpiendo con las reacciones en cadena de oxidación y minimizando el daño hacia las células (Krishnamurthy, 2012). Constituyen la primera línea de defensa celular frente a los radicales libres.

Las principales enzimas que constituyen este sistema antioxidante son: la superóxido dismutasa, catalasa y la glutatión peroxidasa. La enzima superóxido dismutasa transforma el radical superóxido en oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno, el cual es tóxico para las células puesto que, al acumularse genera otros radicales libres como el radical hidroxilo, por ello la catalasa descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno reduciendo el daño (Ighodaro, 2018)

Para que las enzimas antioxidantes cumplan su función, requieren micronutrientes como cofactores para tener una óptima actividad catalítica y estos cofactores pueden ser metales como selenio, hierro, cobre, zinc y magnesio, entre otros (Krishnamurthy, 2012)

3.4.1.1. Catalasa

Se trata de una proteína tetramérica común y abundante en los tejidos vivos que contengan oxígeno, utiliza hierro o manganeso como cofactor y cataliza la degradación o reducción del peróxido de hidrógeno a agua y oxígeno molecular. Se localiza en los peroxisomas, pero está ausente en las mitocondrias de los mamíferos, lo que implica que en estos organelos

la degradación del peróxido de hidrógeno, sea llevada a cabo por otra enzima llamada glutatión peroxidasa (Ighodaro, 2018)

Se ha encontrado que una baja actividad de catalasa en conjunto con la acumulación de peróxido de hidrógeno aumenta el riesgo de padecer cáncer de mama, por lo que la terapia contra el cáncer de mama ha demostrado ser más efectiva al aumentar la actividad de catalasa (Khan, 2010).

El mecanismo de reacción de catalasa se lleva a cabo en dos pasos:

1. Primeramente, la enzima es oxidada por una molécula de peróxido de hidrógeno formando agua y un intermediario que se denomina Compuesto 1.
2. El Compuesto 1 es reducido por otra molécula de peróxido regresando la catalasa a su estado inicial, produciendo agua y oxígeno (Díaz, 2003).

La enzima catalasa tiene dos formas diferentes de actuar que varían de acuerdo con la concentración de peróxido. Si la concentración es alta actúa catalíticamente retirando el peróxido de hidrogeno y produciendo agua y oxígeno mientras que en bajas concentraciones de peróxido de hidrógeno y en presencia de un adecuado donador de hidrógeno, por ejemplo: etanol, metanol, fenol, entre otros, actúa peroxidicamente removiendo peróxido de hidrógeno y oxidando su sustrato (Figura 3) (Estrada, 2010)

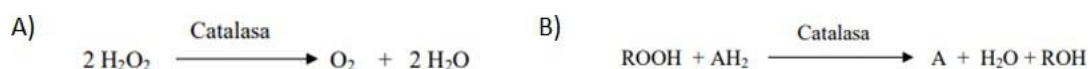


Figura 3. A) Reacción catalítica y B) reacción peroxidativa de la catalasa

3.4.2. Antioxidantes no enzimáticos

Los antioxidantes no enzimáticos son sustancias que en concentraciones normales poseen una afinidad mayor que cualquier otra molécula para interactuar con un radical libre, funcionan cediendo un electrón, transformándose en un radical libre débil no tóxico (Mayor, 2010). Algunos antioxidantes de bajo peso molecular son el ácido ascórbico, glutatión, prolina, entre otros. Por otro lado, en los antioxidantes con alto peso molecular se encuentran los metabolitos secundarios que son importantes para mantener el equilibrio redox (Vertuani, 2004)

3.4.2.1. Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios son compuestos orgánicos que parecen no tener una función directa en el crecimiento y desarrollo de las plantas, así como en los procesos de fotosíntesis, respiración, transporte de solutos, síntesis de proteínas, asimilación de nutrientes, diferenciación o formación de carbohidratos y lípidos. Estos compuestos

presentan una distribución restringida dentro del reino vegetal, debido a que no todos los metabolitos se encuentran en todos los grupos de plantas, puesto que su producción está limitada a un determinado género de plantas, a una familia e incluso a algunas especies, donde se sintetizan en pequeñas concentraciones y no en forma generalizada (Ávalos, 2009).

De acuerdo con sus rutas biosintéticas han sido divididos en tres categorías:

- Los terpenos se forman por la polimerización de unidades de isoprenos y esteroides, se dividen en seis grupos: monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos y esteroides.
- Los compuestos fenólicos son el grupo más grande y diverso, dentro de los que se encuentran los ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides y taninos.
- Los compuestos nitrogenados son alcaloides y glucósidos cianogénicos, son un grupo diverso de compuestos que son fisiológicamente activos en humanos y de gran interés en la industria farmacéutica (Naivy, 2011).

La energía necesaria en las vías de síntesis de metabolitos secundarios se obtiene de la liberada por el metabolismo primario en procesos como el de glucólisis, el ciclo de Krebs, la oxidación de la glucosa, ácidos grasos y aminoácidos.

Son cuatro vías de síntesis de metabolitos secundarios que utilizan los productos del metabolismo primario como la acetil coenzima A (AcetilCoA), el ácido shikímico, el ácido mevalónico y la Desoxi-D-xilulosa-5-fosfato (Figura 4). La primera vía es la del acetato, y utiliza la AcetilCoA, formada por la descarboxilación oxidativa del producto de la vía glucolítica y por la β -oxidación de ácidos grasos, esta vía sintetiza metabolitos importantes como: fenoles, prostaglandinas, entre otros. A partir del ácido shikimico comienza la vía de síntesis que lleva el mismo nombre, éste es producido de una combinación de fosfoenolpiruvato (intermediario de la vía glucolítica) y 4-fosfato eritrosa (de la vía de la pentosa fosfato), produce metabolitos como fenoles, lignanos y alcaloides. En la vía del ácido mevalónico, se forma a partir de tres moléculas de acetil coenzima A, pero esta ruta se canaliza en una serie de diferentes compuestos en comparación con la ruta del acetato. Finalmente, de intermediarios de la vía glucolítica (ácido pirúvico y 3-fosfato de gliceraldehído) surgen metabolitos como terpenoides y esteroides (Dewick, 2002).



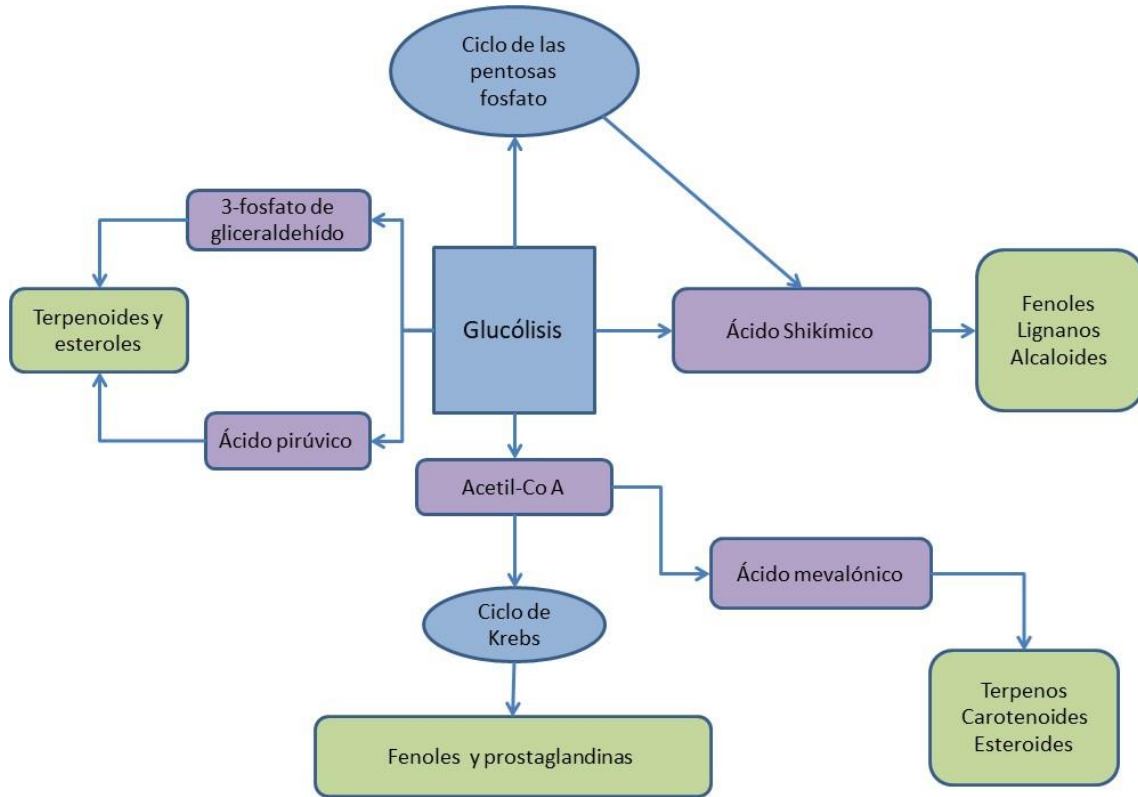


Figura 4. Rutas de síntesis de metabolitos secundarios a partir del metabolismo primario. En color azul se muestra nuestra parte del metabolismo primario que participa en la producción de metabolitos secundarios, en morado las rutas de síntesis de metabolitos secundarios y en verde los metabolitos producidos.

3.4.2.1.1. Compuestos fenólicos.

Los compuestos fenólicos forman un grupo químicamente heterogéneo, con funciones muy diversas en las plantas, algunos participan en la defensa de éstas en contra de herbívoros o patógenos, algunos más en el soporte mecánico, en la atracción de los polinizadores y dispersantes de frutos, en la absorción de la radiación ultravioleta dañina o en la reducción de las plantas competidoras próximas (Taiz, 2006). Estos compuestos juegan un papel muy importante en la neutralización de radicales libres, intervienen como antioxidantes naturales en los alimentos lo que se asocia con su papel protector en las enfermedades cardiovasculares y el cáncer (Porras et al, 2009).

3.4.2.1.2. Flavonoides.

Poseen un esqueleto carbonado ($C_6-C_3-C_6$), se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas, tanto de una forma libre o como glicósidos, éstos últimos se encargan de dar color a las flores frutos y hojas (Domínguez, 1979). Los flavonoides tienen una gran capacidad antioxidante, son esenciales en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo. Sus propiedades anti-radicales se dirigen fundamentalmente hacia el radical hidroxilo y superóxido (Martínez et al, 2002).

3.4.2.1.3. Taninos.

Son metabolitos ampliamente distribuidos en la naturaleza, presentan una estructura y carácter polifenólico y se caracterizan por su solubilidad en agua. Existen tres grupos estructurales: los taninos hidrolizables que se producen por una derivación del ácido shikímico, los florotaninos que derivan por la vía malonil CoA, y los taninos condensados que derivan por biosíntesis mixta de las dos rutas anteriores (Isaza, *et al.*, 2007). Debido a su potente capacidad antioxidante, estos compuestos pueden reducir el riesgo a enfermedades cardiovasculares y cáncer, lo que representa un gran interés en la nutrición y la medicina (Oszmianski, *et al.*, 2007)

3.4.2.1.4. Esteroides y esteroleos.

Los esteroides constituyen una de las principales familias de moléculas presentes en animales, plantas y hongos. Se encuentran en los lípidos insaponificables, entre los grupos de esteroides presentes en las plantas se encuentran los esteroleos (Llamos, *et al.*, 2008) que son alcoholes solidos que contienen de 27 a 29 átomos de carbono, en las plantas se pueden encontrar libres, como esteroleos o como glicósidos. Han sido encontrados en todos los órganos de las plantas, pero mayormente en las semillas (Domínguez X., 1979).

3.4.2.1.5. Saponinas.

Son compuestos constituidos por un anillo terpenoide o esteroidal conocido como aglicona o sapogenina, sustituidos por oligosacáridos a través de enlaces glucosídicos que le confieren un carácter anfifílico (Ahumada, 2016). Se disuelven en agua y disminuyen la tensión superficial de ésta, por lo que una característica de estos compuestos es que al agitar las soluciones se forma una espuma abundante y relativamente estable (Domínguez, 1979). Las saponinas tienen una amplia gama de propiedades biológicas en las que resaltan la antitumoral, fungicida, hemolítica y antiinflamatoria (Ahumada, 2016).

3.4.2.1.6. Cumarinas.

Se les considera como compuestos derivados de la lactona del ácido o-hidroxicinámico, usualmente llamada cumarina. Este grupo de compuestos se pueden encontrar en cualquiera de los órganos vegetales, desde raíces hasta las flores y frutos. Se ha reportado que las cumarinas pueden ser anticoagulantes, espasmolíticas e hipercolesteremias o inhibidoras del crecimiento vegetal (Domínguez, 1979).

3.4.2.1.7. Alcaloides.

Son compuestos que contienen nitrógeno formando parte de un anillo heterocíclico, entre sus características destaca ser alcalinos y solubles en agua. Se sintetizan principalmente a partir de aminoácidos como la lisina, tirosina y triptófano. En las plantas actúan como defensas frente a depredadores, debido a su toxicidad y capacidad de disuasión. Poseen propiedades farmacológicas a concentraciones bajas, sin embargo, es tóxico cuando sus niveles de concentración aumentan (Taiz, 2006).



3.4.2.1.8. Quinonas

Son dicetonas cíclicas no saturadas, se forman de la oxidación de compuestos aromáticos. De acuerdo a su grado de complejidad química se clasifican en benzoquinonas (monocíclicas); naftoquinonas (bicíclicas) y antraquinonas (tricíclicas) (Leyva, 2016).

3.4.2.1.9. Sesquiterpenlactonas

Son estructuras terpénicas que poseen 15 átomos de carbono, incluyendo una lactona α - β insaturada, son responsables de diferentes actividades biológicas entre las cuales destacan la actividad citotóxica, antioxidante, antiviral, antimicrobiana, antifúngica, antiinflamatoria, analgésica, entre otras (Villacorta, 2018).

3.5. Tratamiento antioxidante

Se ha propuesto que existe una relación entre los radicales libres y más de sesenta problemas de salud incluido el proceso del envejecimiento, cáncer, diabetes, alzhéimer, problemas del corazón, aterosclerosis, entre otros (Krishnamurthy, 2012). Como las defensas antioxidantes endógenas no son completamente efectivas para detener al daño oxidativo, se ha propuesto el incremento del consumo de antioxidantes exógenos a través de la dieta (Elejalde, 2001).

Mediante la reducción de la exposición a radicales libres y el incremento de la ingesta de comida rica en antioxidantes (frutas, nueces, cereales y vegetales) se reduce el riesgo a las enfermedades provocadas por el estrés oxidativo (Krishnamurthy, 2012)

Debido al alto contenido de antioxidantes presentes en las plantas se ha sugerido incrementar el consumo de productos de origen vegetal como auxiliar en el tratamiento de algunos padecimientos, de igual manera, han aumentado los estudios en las denominadas plantas medicinales para contrarrestar los daños provocados por el estrés oxidativo.

Estudios sobre el beneficio del tratamiento antioxidante han dado resultados positivos en el tratamiento alternativo en enfermedades cardiovasculares, del sistema nerviosos, cáncer, entre otros (Núñez, 2011), sin embargo, en algunos otros se obtuvieron resultados contradictorios, debido a causas como: inicio precoz o tardío de la intervención, intervenciones poblacionales, por grupos reducidos con riesgo aumentado, dosis insuficientes, utilización de un solo antioxidante o una combinación de dos o más, evaluación con parámetros concretos de laboratorio, con variables biológicas o clínica (Elejalde, 2001).

3.5.1. Estudio de plantas medicinales

De acuerdo con Verde-Star, *et al.* (2016), el estudio de las plantas medicinales se lleva a cabo a través de una metodología a seguir, la cual comprende las siguientes etapas:

- Estudios Etnobotánico y Etnofarmacológico.
- Estudio Fitoquímico.
- Estudio de Actividad Biológica.



3.5.1.1. Fitoquímica

La fitoquímica comprende el estudio de los metabolitos secundarios que se encuentran presentes en las plantas. Para llevar a cabo este estudio se emplean diversas técnicas, tales como el tamizaje fitoquímico, cromatografía de gases, cromatografía de capa fina, cromatografía de líquidos de alta resolución, espectrofotometría de masas, espectrofotometría infrarroja, entre otras. Posterior a un análisis fitoquímico, se pueden llevar a cabo distintas metodologías para determinar la actividad biológica de los compuestos en cuestión (Carvajal, 2009).

3.5.1.2. Etnobotánica

La etnobotánica es la disciplina que estudia el lugar de las plantas en la cultura y la interacción directa de las personas con las plantas. Se trata de una herramienta útil para la recopilación, descripción y estudio de la cultura botánica popular. Los trabajos etnobotánicos tienen una clara tendencia hacia el conocimiento de las aplicaciones medicinales, por lo que muchos de ellos tienen un claro sesgo de carácter etnofarmacológico (Pardo, 2003).

3.6. *Momordica charantia*

Momordica charantia comúnmente conocido como melón amargo, bálsamo, catajera, cundeamor, melón de ratón, cunde amor, papayiyo, pepino cimarrón (Hanan, 2009), entre otros, es un miembro de la familia Cucurbitaceae. Se trata de una especie trepadora que regularmente crece sobre paredes, arbustos y árboles, ocasionalmente cultivada como plantas ornamentales o para el consumo del fruto inmaduro (Prarthna, 2014). Sin embargo, en México está considerada como exótica e invasiva y crece en sitios perturbados, orillas de caminos y parcelas (Hanan, 2009).

3.6.1. Descripción

Trepando a otra planta puede crecer hasta seis metros de alto; presenta hojas simples alternadas de 4 a 12 cm de ancho, 3 a 7 lóbulos debidamente separados y romos con pequeños puntos marginales (Gupta, 2011). La morfología del margen de la hoja se muestra como “una mordida”, razón por la que recibe el nombre genérico *Momordica* que significa “morder” (Prarthna, 2014). Las flores son actinomorfas y unisexuales (Gupta, 2011) con cinco pétalos de color amarillo (Figura 5) (Kumar, 2010). El fruto es de forma ovoide a elipsoidal, su exterior es estriado o verrugoso y de color verde o amarillo cuando el fruto madura; presenta semillas elípticas planas que varían de 8 a 13 mm de longitud de color negruzco con una cubierta roja, que generalmente tiene un sabor dulce y es consumido en algunas localidades (Prarthna, 2014; Gupta, 2011; Hanan, 2009).





Figura 5. Morfología de *Momordica charantia*, (A) Tiene hojas simples y alternas con lóbulos profundamente separados. (C) Las flores son actinomorfas (D) El fruto tiene un aspecto ovoide, elipsoide o fusiforme. (Foto de Javier Rodríguez 22 de septiembre 2018, Limón chiquito Ver. México)

3.6.2. Origen y distribución

El origen de *Momordica charantia* es incierto, sin embargo, se sabe que es nativa de los trópicos del mundo y su origen pudo haberse dado en África tropical y Asia tropical (Hanan, 2009). Actualmente mantiene su distribución en los trópicos principalmente en India, China, África oriental, América central y del sur (Figura 6) (Prarthna, 2014; Kumar, 2010)

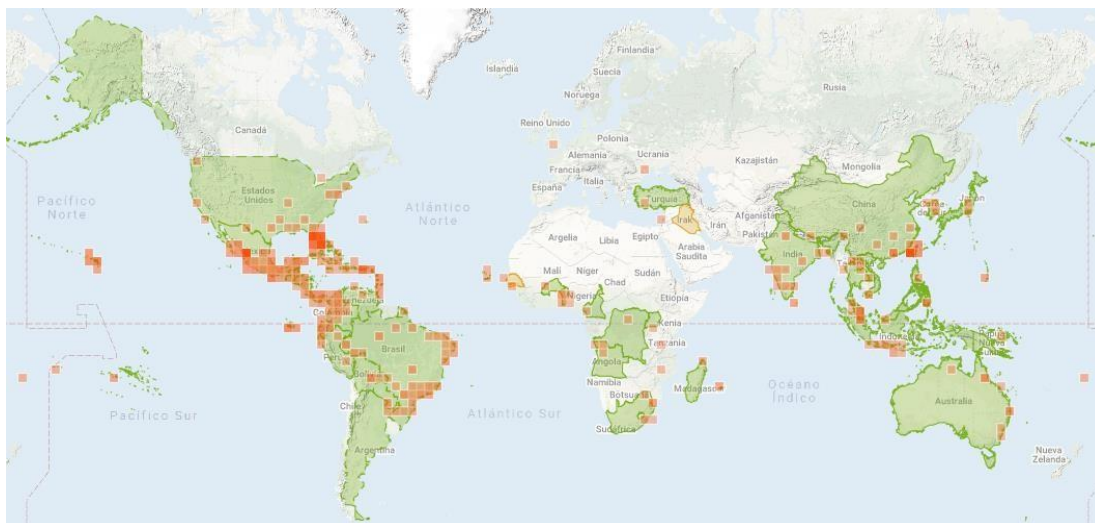


Figura 6. Distribución de *Momordica charantia* en zonas tropicales (Obtenido de Lira *et al*, 2018)

En México se considera una especie introducida con distribución amplia. Se ha reportado en los estados de Baja California sur, Campeche, Chiapas, Colima, Jalisco, Morelos, Nayarit, Tabasco, Veracruz y Yucatán (Hanan, 2009).

3.6.3. Usos (etnobotánica)

Los frutos y brotes jóvenes de *M. charantia* son considerados suplementos alimenticios en algunas localidades de África occidental y en algunos países de Asia, (Prarthna, 2014; Gupta, 2011; Bakare, 2010).

Algunos usos en la medicina tradicional de esta especie son en el tratamiento del cáncer, la diabetes, ictericia, neumonía, fiebre, reumatismo, malaria, disentería, así como es utilizada en el tratamiento de malestares como el dolor abdominal, hemorroides, flujo vaginal, cólicos, quemaduras, además, es usada como anticonceptivo, analgésico, antiinflamatorio hipoglucemiante anticolesterolémico, antianémico, purgante, antiherpético, cicatrizante, entre otros (Prarthna, 2014; Gupta, 2011; Semeniuk, 2018).

3.6.4. Estudios fitoquímicos

Los efectos benéficos de *M. charantia* han sido atribuidos a varios de sus componentes bioactivos como saponinas, polisacáridos, proteínas, terpenos, alcaloides, flavonoides, quinonas, ácidos grasos, entre otros (Zhang, 2016).

De acuerdo con Dandawate, *et al.* (2016), los componentes que le dan su capacidad anticancerígena inhiben el crecimiento de células anticancerígenas por la inducción de apoptosis. La actividad anticancerígena de *M. charantia* ha sido demostrada en diversos tipos de cáncer incluyendo el carcinoma hepatocelular, cáncer de pulmón, colon, vejiga y mama (Santana, 2018).

M. charantia es una fuente rica en fitoquímicos, se han identificado triterpenoides, fenoles, flavonoides, aceites esenciales, esteroides y saponinas (Dandawate, 2016). Los esteroides son conocidos por controlar los niveles de colesterol en sangre, además por ser anticancerígenos, antiinflamatorios y antioxidantes, de igual manera, los terpenoides son conocidos por su actividad antitumoral y antiinflamatoria, mientras que los compuestos fenólicos tienen importantes efectos como antioxidante, antimicrobiano y anticancerígeno (De Oliveira, 2018)



Cuadro 2.- Estudios fitoquímicos en extractos de <i>Momordica charantia</i>			
Fuente	Metabolitos reportados	Parte de la planta	Extracción
Sood <i>et al</i> , 2012	Terpenoides Carbohidratos Saponinas fitoesteroles	semillas	Con Buffer de fosfatos salino. (PBS)
Mada <i>et al</i> , 2013	Alcaloides Taninos Saponinas Flavonoides Esteroides	Hojas	En extractos acuosos y etanólicos
Oragwa <i>et al</i> , 2013	Alcaloides Flavonoide Glicósidos Saponinas Esteroles	Semillas	En extracto etanólico
Prarthna <i>et al</i> , 2014	Taninos Cumarinas Fenoles Antraquinonas Alcaloides Flavonoides Terpenoides Saponinas	Hojas	En extracto acuoso
Hernandez <i>et al</i> , 2020	Alcaloides Saponinas Esteroles	Hojas	En Extracto metanólico
Quispe, 2018	Alcaloides Fenoles Flavonoides Taninos	Hojas	En extracto hidroalcohólico
Cervantes <i>et al</i> , 2017	Alcaloides Flavonoides Cumarinas Esteroles Saponinas	Hojas	En extracto etanólicos
Immaculate <i>et al</i> , 2015	Fenoles Glucósidos Taninos Alcaloides Saponinas Flavonoides Terpenoides	Planta completa	En extracto etanólico
Semeniuk <i>et al</i> , 2018	Flavonoides Taninos/Fenoles Esteroides Antraquinonas Saponinas	Hoja, semilla y fruto	En fracciones etanólicas, la clorofórmicas y acuosas



3.6.5. Actividad biológica

La actividad biológica de las plantas medicinales empleadas en la medicina tradicional son el principal motivador para futuras investigaciones (Oliveira, 2018). Diversos estudios sobre la actividad biológica de *Momordica charantia* la sitúan como un potente hipoglucémico que conduce acciones potencialmente benéficas en el tratamiento de la diabetes (Prarthna, 2014)

Dos proteínas encontradas en *M. charantia* (α y β momorcarinas) son conocidas por su función como inhibidoras del VIH, además, se han reportado otros componentes con alguna actividad biológica en esta especie como glucósidos, saponinas, alcaloides, terpenos, proteínas y esteroides (Prarthna, 2014, Shiha, 2009).

3.6.6. Actividad anticancerígena

M. charantia posee actividad anticancerígena y antileucémica, la cual ha sido documentada en distintas líneas celulares incluyendo cáncer de hígado, leucemia, melanoma y sarcomas solidos (Prarthna, 2014). Los fitoquímicos presentes en los extractos *M. charantia* han demostrado clínicamente su capacidad de inhibir la enzima guanilato ciclasa, la cual está relacionada con la patogénesis y la replicación en enfermedades como la soriasis, leucemia y cáncer. Además, se encontró evidencia limitada de que *M. charantia* mejora la función de las células inmunes en personas con cáncer (Kumar, 2010)

4. Justificación

A nivel mundial, el número de pacientes con cáncer va en aumento, es considerado como una de las principales causas de muerte. En México se sitúa como la tercera causa de muerte, siendo el cáncer de mama el más frecuente entre las mujeres y la primera causa de muerte en México. Actualmente los tratamientos oncológicos tienen como base la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia, sin embargo estos han demostrado ser poco específicos y con diversos efectos secundarios. Por lo que resulta importante la búsqueda de terapias alternativas más eficientes como la terapia antioxidante por medio del uso de plantas medicinales.

5. Hipótesis

Los antioxidantes presentes en extractos de *Momordica charantia* modularán el estrés oxidativo en modelos murinos de carcinogénesis.

6. Objetivo General

Evaluar el efecto de extractos de *M. charantia*, sobre la modulación del estrés oxidativo, usando marcadores de estrés oxidativo en modelos murinos de cáncer.



herbario nacional de México (MEXU). Además, se recolectó para la preparación de los extractos, 200g de cada estructura (hoja, tallo, fruto, y planta completa), debido a la poca presencia de flores solo se recolectaron 40 g.

8.3. Extracción

Se prepararon dos diferentes tipos de extractos *in situ*.

- Hidroalcohólicos: Se pesaron 100 g de cada estructura, cada una de ellas se colocó en un litro de alcohol etílico 70 %. Finalmente se almacenó en refrigeración por un mes a una temperatura entre 0 y 5 °C.
- Acuósos: Se prepararon por cocimiento, utilizando 100 g de cada estructura. Las muestras se colocaron en un litro de agua a temperatura de ebullición, se dejó al fuego por cinco minutos y se almaceno para su traslado al laboratorio.

En el caso de las flores, para cada extracto solo se utilizaron 20 g y se utilizó una cantidad proporcional del solvente (200 ml para cada caso).

- Obtención de extractos secos.

Los extractos obtenidos se colocaron en baño maría, posteriormente se obtuvieron extractos secos los cuales fueron pesados para obtener el rendimiento de la extracción.

8.4. Cuantificación de metabolitos primarios

Por medio de los extractos obtenidos de *M. charantia*, se cuantificaron los metabolitos primarios (proteínas, lípidos, carbohidratos reductores, no reductores y totales).

8.4.1. Cuantificación de proteínas

Se utilizó el método de Lowry, el cual se basa en la formación de un complejo colorido cuando reaccionan las proteínas con cobre, además en este método se agrega el reactivo de Folin-Ciocalteu para incrementar la intensidad del color desarrollado, esto ocurre cuando el complejo formado por el ion metálico y los nitrógenos de la proteínas, transfiere los electrones al complejo Fosfomolibdato- fosfotungstato, lo que produce una coloración azul que se lee por espectrofotometría (Sánchez, 2013).

Se preparó una curva de calibración con concentraciones de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 mg/mL a partir de una solución patrón de albumina purificada 2 mg/mL. A un ml de las muestras, así como de las soluciones patrón de la curva se le agregaron 5 ml del reactivo C (Na₂CO₃ al 2% en NaOH 0.1 M, CuSO₄•5H₂O 1 % y tartrato de sodio potasio 2% en proporción 50:0.5:0.5). Posteriormente se agregó 0.5 ml del reactivo Folin-ciocalteau, se incubaron a temperatura ambiente por 30 minutos. Finalmente se obtuvieron las absorbancias a 580 nm.



8.4.2. Cuantificación de carbohidratos

Se llevó a cabo en tres etapas, en la primera parte se cuantificaron los carbohidratos totales a través del método Fenol-sulfúrico, en la segunda etapa se cuantificaron carbohidratos reductores por el método del ácido Dinitrosalicílico, finalmente la concentración de carbohidratos no reductores se obtuvo por diferencia.

- a) Fenol-sulfúrico. Este método se basa en la deshidratación de carbohidratos con la adición del ácido sulfúrico, con esta reacción se forman derivados del furfural y el 5-hidroximetilfurfural (HMF), cuando este interactúa con el fenol facilita la formación de complejos que permiten la coloración de la solución y su cuantificación por espectrofotometría (López, 2017). Se preparó una curva de calibración a partir de una solución patrón de glucosa [0.1 mg/ml]. Se tomó 1 ml de cada extracto, así como de las soluciones patrón, se agregó 0.5 ml de fenol al 5% y 2.5 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se incubaron por 20 minutos para finalmente leer la absorbancia de cada muestra a 490 nm.
- b) Ácido Dinitrosalicílico (DNS). Se basa en una reacción redox entre el DNS y los azúcares reductores presentes en la muestra (Gil, 2006). Se empleó una curva de calibración con un patrón de glucosa 2 mg/ml. Se tomó 0.5 ml de cada extracto, así como de las soluciones patrón. Se agregó 0.5 ml del reactivo de DNS a cada muestra, posteriormente se colocó en baño maría a 100°C por 5 minutos. Después se deja enfriar hasta temperatura ambiente y se añadió 5 ml de agua destilada. Por último, se realizó la lectura a 540 nm en espectrofotómetro.
- c) Finalmente, la concentración de carbohidratos no reductores se obtuvo restando los carbohidratos reductores de los totales.

8.4.3. Lípidos

La cuantificación de lípidos se realizó con el método de la sulfo-fosfo-vainillina (Mishra, *et al.*, 2014), donde los lípidos reaccionan con el ácido sulfúrico en presencia de calor, formando iones carbonio, que en presencia de sulfo-fosfo-vainillina produce una coloración rosada que se cuantifica por espectrofotometría.

Se utilizó una curva de calibración de colesterol para obtener la concentración de lípidos, a 100 µL de cada muestra se le agregó 1 ml de ácido sulfúrico, posteriormente se colocó en baño maría a 100° C por 10 minutos. Después se tomaron 100 µL y se le adicionaron 2.9 ml de vainillina (10%), se dejó reposar por 10 minutos y se midió por espectrofotometría a 530 nm.

8.5. Identificación de metabolitos secundarios

Se realizó la identificación de metabolitos secundarios *in situ* durante la recolecta y en el laboratorio, utilizando los extractos secos.



- *In situ*

Se utilizaron 0.5 g de cada estructura que se colocó en un tubo de ensayo con 1 ml de solvente, se maceró con ayuda de un agitador de vidrio para finalmente a cada extracto aplicarle los métodos de identificación que se describen a continuación.

- Laboratorio

De los extractos secos obtenidos se prepararon soluciones de 0.1 g/ml, y posteriormente se realizaron diluciones seriadas para obtener concentraciones de 0.01, 0.001, 0.0001, 0.00001 g/ml, a las cuales se les aplicaron los ensayos para la identificación de metabolitos secundarios.

8.5.1. Identificación de compuestos fenólicos por el método del Cloruro férrico.

Para la identificación se utilizó el método de cloruro férrico (FeCl_3) (Barrera, 2014), el cual se basa en el ataque producido por el Ion cloruro al hidrógeno del grupo hidroxilo de los compuestos fenólicos, provocando una ruptura de enlace y la unión del grupo fenóxido al hierro para la formación del complejo, que produce un cambio del color. La coloración azul, verde, rojo o negro indica la presencia de fenoles. Para llevar a cabo esta prueba se tomó 1 ml de una solución acuosa del extracto y se le añadieron 10 gotas de FeCl_3 2.5%.

8.5.2. Identificación de flavonoides por el método de Shinoda

Se utilizó la técnica de Shinoda, la cual se utiliza para aquellos flavonoides que tengan en su estructura un núcleo benzopirona como en flavonas, flavonoles, flavanonas, entre otros (Monedero, 2016). En esta reacción el magnesio metálico es oxidado por el HCl concentrado, dando como producto Hidrógeno y MgCl_2 el cual forma complejos con los flavonoides dando coloraciones rojizas (Martínez, 2007). A 0.5 ml de los extractos se le agregó un trozo de limadura de Magnesio, posteriormente se agregaron 4 gotas de HCl concentrado.

8.5.3. Identificación de Taninos por dos métodos distintos.

Para la identificación de estos compuestos se realizaron dos pruebas las cuales son:

- I. Reacción con Cloruro férrico. Químicamente los taninos son polímeros de polifenoles, por lo que al igual que con los compuestos fenólicos se puede usar esta técnica para su identificación, al formarse el complejo con la unión del grupo fenóxido al hierro, pueden surgir distintas coloraciones lo que ayudara a diferenciar entre fenoles y taninos, una coloración rojo-vino indica compuestos fenólicos en general, una coloración verde intensa indicara taninos del tipo pirocatecólicos, mientras que una coloración azul señala la presencia de taninos del tipo pirogalol (Barrera, 2014). A 0.5 ml de cada extracto se le agregó 0.5 ml de cloruro férrico y 0.2 ml de agua, se observó el color producido.



- II. Reacciona con grenetina- NaCl. Esta técnica se basa en la habilidad de los taninos para precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas (Isaza, 2007). A 0.5 ml de cada extracto se le añadió 0.5 ml de grenetina-NaCl, después se le agregó 5 gotas de HCl concentrado y se dejó en reposo para la formación del precipitado.

8.5.4. Identificación de esteroides con la prueba de Lieberman-Burchard y Salkowski

La prueba de Lieberman-Burchard (Arranz, 1994) es usada para cualquier esteroide o triterpenoide con un doble enlace (y en algunos casos aun insaturados) pueden dar positivos con esta reacción. Esta prueba causa un cambio de color debido a la deshidratación que se da para la formación de dienos. Se tomó 1 ml del extracto clorofórmico y se le adicionara 1 ml del reactivo de Lieberman-Burchard, una coloración azul, verde, rojo, rosado o violeta es positivo para esta prueba.

La prueba de Salkowski es positiva cuando hay un cambio de coloración hacia el amarillo o el rojo; cuando hay presencia de esteroides insaturados se forma un anillo de color rojo, se tomaron 0.5 ml del extracto clorofórmico y se adicionaron 10 gotas de ácido sulfúrico.

8.5.5. Identificación de saponinas por el método de espuma.

Se utilizó el método de espuma (Mac Donald, 2005) para la identificación de saponinas, este método se basa en la propiedad de las saponinas para disminuir la tensión superficial de los líquidos, provocando abundante espuma al agitar las soluciones. Se tomó 0.5 ml de cada extracto, se colocó en un tubo de ensayo, posteriormente se agitó vigorosamente para la formación de la espuma. Si la espuma que se forma se mantiene por más de 1 minuto se considerara positivo para la presencia de saponinas.

8.5.6. Identificación de cumarinas con la prueba de Baljet.

La prueba de Baljet (Orantes, 2008) se basa en la formación de un complejo coloreado entre el ácido pícrico y la lactona α , β y γ insaturada. Para la identificación de cumarinas se tomó 0.5 ml del extracto y se le agregó 200 μ L del reactivo del Baljet. Un color naranja se considera positivo para este ensayo.

8.5.7. Identificación de sesquiterpenlactonas con la prueba de Baljet.

Al igual que con las cumarinas, esta prueba se basa en la identificación del anillo lactónico de las Sesquiterpenlactonas, por lo que se utilizó esta misma técnica con una variación para la identificación de este compuesto. Se tomó 0.5 ml del extracto etanólico se le adicionó 200 μ L del reactivo del Baljet, posteriormente se le agregaron cuatro gotas de hidróxido de potasio. Una coloración naranja o rojiza se considera positivo.

8.5.8. Identificación de alcaloides por tres métodos distintos.

Las técnicas de identificación de alcaloides se basan en la capacidad que tienen los alcaloides en estado de sal de combinarse con el yodo y metales pesados formando



precipitados con distintos reactivos. Se realizaron las pruebas de Mayer, Dragendorff y Wagner (Coy, 2014).

- Mayer: Se basa en la acidez de los alcaloides en su forma de sales para la formación de un precipitado blanco o amarillo claro y se utiliza para la identificación no específica de alcaloides. A 0.5 ml de cada extracto se le agregó 0.5 ml del reactivo de Mayer y se observó la formación del precipitado.
- Dragendorff: La presencia de alcaloides se identifica por la formación de un precipitado naranja rojizo en una solución ácida de alcaloides. Se tomó 0.5 ml de cada extracto, se le adicionó 0.5 ml del reactivo de Dragendorff, finalmente se observó la formación del precipitado.
- Wagner: Con esta prueba la presencia de alcaloides se determinó con la formación de un precipitado pardo oscuro rojizo. Se tomó 0.5 mL de cada extracto, se adicionó 0.5 ml del reactivo de Wagner y se observó la formación de un precipitado.

8.5.9. Identificación de quinonas.

La técnica utilizada en la identificación de quinonas, se basa en la solubilidad de las quinonas en una solución de hidróxido de sodio, las quinonas α y β hidroxiladas en esta solución dan coloraciones que van del amarillo pasando por el rojo al violeta. Se tomó 0.5 ml del extracto y se le agregaron 4 gotas de etanol, 8 gotas de hidróxido de sodio y se observó la coloración.

8.6. Cuantificación de metabolitos secundarios

8.6.1. Cuantificación de compuestos fenólicos por el método de Folin-ciocalteu.

Se utilizó la técnica de Folin-Ciocalteu, se basa en la reducción del ácido Fosfomolibdotungstico por los compuestos fenólicos presentes en los extractos de las plantas a un pH básico, formando un complejo de color azul intenso que presenta un máximo de absorción a 760 nm (Avella, 2008).

Se realizó una curva patrón a partir de una solución de ácido gálico 0.1 mg/ml, se prepararon soluciones con concentraciones de 0.01, 0.02, 0.03, 0.04 mg/ml, para la construcción de la curva. Se utilizaron soluciones acuosas de cada extracto, de cada una de ellas se tomó un ml y se le añadió 0.5 ml del reactivo de Folin-Ciocalteu, dejándose reposar por 5 minutos, posteriormente se adicionó 1.5 ml de carbonato de sodio al 20%, se agitó y dejó reposar por 30 minutos. Finalmente se obtuvo la absorbancia de las muestras a 760 nm.

8.6.2. Cuantificación de flavonoides

Se utilizó la reacción con cloruro de aluminio, la cual se basa en la formación de complejos ácidos estables con el grupo ceto en el carbono 4 y los grupos hidroxilo en los carbonos 3 y 5 de flavonas y flavonoles, también por la formación de ácidos lábiles con los grupos orto-hidroxilos de los anillos A o B de los flavonoides. Los complejos formados presentan un máximo de absorción a 415 nm (Chang, 2002).



Se preparó una curva patrón a partir de una solución de quercetina (10 µg/ml). Se tomó un ml de una solución etanólica de cada extracto, así como de las soluciones de la curva patrón, se les agregó 1 ml de cloruro de aluminio 10%, un ml de acetato de potasio, se dejó incubar en oscuridad por 30 minutos y se midió la absorbancia a 415 nm.

8.6.3. Cuantificación de taninos.

La concentración de taninos se obtuvo por el método de yodato de potasio (Camacho, 2012) el cual se basa en la formación de un complejo colorido entre el yodo y los taninos presentes, haciendo posible su cuantificación midiendo la absorbancia a 550 nm.

Para realizar la prueba se preparó una curva patrón de ácido tánico 2 mg/ml, posteriormente a un ml de la solución patrón, así como a las muestras diluidas en acetona 70%, se agregó 5 ml de yodato de potasio 2.5%. Se incubó a temperatura ambiente por 7 minutos midiéndose la absorbancia a 550 nm.

8.6.4. Cuantificación de esteroides por el método de Liebermann-Buchard.

Se llevó a cabo por el método de Liebermann-Buchard (Arranz, 1994) este método se basa en la reacción de los esteroides con un ácido fuerte formándose sustancias coloridas que se cuantifica por espectrofotometría. Se preparó una curva de calibración de colesterol un mg/ml, así como soluciones clorofórmicas de cada extracto, de las cuales, se tomó un ml de cada uno, se le agregaron un ml del reactivo de Liebermann-Buchard, 1 ml de cloroformo, posteriormente se dejaron reposar por 10 minutos y se registraron lecturas de absorbancia a 626 nm.

8.6.5. Cuantificación de saponinas.

La cuantificación de saponinas se llevó a cabo con el método indirecto de carbohidratos reductores (León, 2012) que se basa en la cuantificación de los azúcares reductores producidos por la hidrólisis de las saponinas. Fue utilizada una curva de calibración de Saponina Quijalla 50 mg/ml. A un ml de las soluciones patrón así como de las muestras se agregaron 3 ml de agua destilada y se colocó en baño maría con una temperatura entre 60 y 70 °C, se agregó 0.2 ml de ácido clorhídrico concentrado y se incubaron por 20 minutos. Posteriormente se interrumpió la reacción con un baño de hielo y se ajustó el pH entre 6.5 y 7.2. Finalmente se igualó en volumen de las muestras y se cuantificaron carbohidratos reductores usando el método del ácido dinitrosalicílico mencionado anteriormente, para obtener la concentración de saponinas presentes se usó la siguiente fórmula:

Carbohidratos R. (de la hidrólisis) -- Carbohidratos R. (antes de la hidrólisis) = C. Generados



8.6.6. Cuantificación de cumarinas

Se utilizó la reacción con acetato de plomo descrita por Bravo M, Jiménez G, (2011), basada en la formación de un complejo coloreado por la interacción entre el plomo y el núcleo benzopirona de las cumarinas. Se utilizó una curva de calibración con Umbelliferona 2mg/ml. Se tomaron 200 μ L de cada extracto, así como de las soluciones patrón, se agregaron 2 ml de agua destilada, 0.5 ml de Acetato de plomo al 5% y se aforó a 10 ml. Después se centrifugó a 3500 rpm por 10 minutos, se tomó un ml del sobrenadante, se agregaron 4 ml de HCl 0.1 M y se obtuvieron las absorbancias a 320 nm.

8.6.7. Cuantificación de alcaloides

Se utilizó la técnica que se basa en la reacción de los alcaloides con el verde de bromocresol formando un complejo colorido entre el verde de bromocresol y el alcaloide a un pH 4.7, mencionado por Shamsa, *et al.* (2008). Se preparó una curva de calibración con cafeína 0.1 mg/ml. Se realizaron diluciones del extracto seco utilizando HCl 2 N como solvente, a un ml de esta solución se le realizó una extracción con cloroformo, se agregaron 5 ml de verde de bromocresol y 5 ml de buffer de fosfatos, se mezcló y se realizó una nueva extracción con cloroformo. Finalmente se tomó una alícuota y se lee su absorbancia a 470 nm.

8.6.8. Cuantificación de quinonas

La cuantificación de quinonas se llevó a cabo por el método del tricloruro de aluminio (Ramal, 1994). Para realizar la cuantificación se preparó una curva patrón de quercetina (1 mg/ml). A un ml de cada muestra, así como de cada solución patrón se agregaron 3 ml de metanol, posteriormente se agregaron 3 ml de tricloruro de aluminio y finalmente se lee la absorbancia a 415 nm.

8.6.9. Cuantificación de Sesquiterpenlactonas

La cuantificación de estos metabolitos se realizó por el método del picrato de sodio (Villacorta, 2018), se basa en la formación de un complejo entre el ácido pícrico y la lactona α , β y γ insaturada, dicho complejo presenta coloración rojo claro a oscuro. Los complejos formados presentan una máxima absorción a longitud de onda de 495 nm.

Se realizó una curva de calibración de estafiatina un mg/ml, a un ml de las soluciones de la curva de calibración, así como a las muestras disueltas en etanol se agregaron 2 ml de picrato de potasio (Carbonato de sodio y ácido pícrico), se incubaron por 30 minutos y se midió la absorbancia a 495 nm.

8.7. Cuantificación de la actividad antioxidante

Para determinar la actividad antioxidante se utilizó el método del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)(Kuskoski, 2005) que posee una coloración violeta, al mezclarse con un compuesto antioxidante se reduce y provoca la pérdida del color.



Se realizó una curva patrón con ácido ascórbico. De cada muestra se tomaron 50 μ L y se mezclaron con 2.95 ml de la solución DPPH 0.1 mM, las muestras se incubaron en oscuridad por 30 minutos y se leyó la absorbancia a 517 nm.

8.8. Marcadores de Estrés oxidativo.

Para poder estudiar el efecto de la capacidad antioxidante de *Momordica charantia* en la carcinogénesis, se usaron como modelo biológico ratones CD-1 a los que se les aplico como tratamiento los extractos obtenidos, en estos modelos fueron estudiados los siguientes marcadores de estrés oxidativo: la concentración de nitritos, lipoperoxidación, actividad de catalasa, así como la presencia de tumoraciones en los grupos de ratones.

8.8.1. Diseño experimental

Se utilizaron 60 ratones CD-1 hembras de tres meses de edad, los cuales fueron agrupados en grupos de 6 ratones, a cada uno se aplicó un tratamiento diferente (Cuadro 3), la metodología se realizó con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999.

Grupo	Números de los ratones	Tratamiento
1	6	Planta completa acuoso +DMBA
2	6	Hoja acuoso + DMBA
3	6	Tallo acuoso+ DMBA
4	6	Control (DMBA)
5	6	Vehículo (Aceite de olivo)
6	6	Planta completa acuoso
7	6	Hoja acuoso
8	6	Tallo acuoso
9	6	Planta completa hidroalcohólico
10	6	Control

8.8.2. Inducción con DMBA

El DMBA (7,12-Dimethylbenz[a] antraceno) es un hidrocarburo aromático policíclico y requiere de biotransformación en el hígado y la glándula mamaria (Oliveira, 2015), es un potente carcinógeno órgano-especifico, que induce la formación de tumores en las glándulas mamarias cuando las ratas son expuestas a este compuesto (Manjanatha, 2000). Se utilizó una dosis de 2.56 mg por cada 30 g de peso del ratón, disuelto en 50 μ L de aceite de oliva y se aplicó vía oral, posteriormente se observó por tres meses la aparición de tumores y cambios en el comportamiento.

8.8.3. Tratamiento

Por medio de las entrevistas etnobotánicas se obtuvo la dosis que emplea la gente para una persona, así como la duración del tratamiento. La dosis que fue administrada a los ratones se obtuvo haciendo la proporción entre el peso y la cantidad usada por una persona

adulta, mientras que la duración fue la que se obtuvo con mayor frecuencia en las entrevistas (1 mes).

8.8.4. Sacrificio y obtención de muestras

Los ratones se sacrificaron por decapitación con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, un mes después de haber comenzado a aplicar el tratamiento, la sangre se colectó en tubos Vacutainer con heparina, finalmente se centrifugaron para la obtención del suero, el cual se usó de manera inmediata, manteniéndolo aproximadamente a 4°C.

- Obtención de homogenado de hígado.

Se extrajo el hígado de los organismos inmediatamente después de haberlos sacrificado, posteriormente fueron perfundidos con solución salina 0.9%, y macerados con buffer Tris pH 7.4 manteniéndolo a 4°C, se filtró y se obtuvo el homogenado que se mantuvo a 4 °C hasta la realización de las pruebas.

8.8.5. Cuantificación de nitritos

Se utilizó el método de Griess, el cual se basa en la formación de un cromóforo por la reacción de sulfanilamida con nitritos en medio ácido, seguido de un acoplamiento con aminas bicíclicas tales como el N-1-(naftil) etilendiamina dihidrocloruro (Familia, 2010). Se preparó una curva patrón utilizando como patrón de Nitrito de Sodio (100µM). Se tomaron 50 µL de suero y se completaron con agua destilada a un ml, del homogenado se tomaron 0.5 ml y se completó con agua destilada a un ml, a cada una de estas soluciones, así como a las de la curva patrón se les adicionó un ml de sulfanilamida en ácido fosfórico, se incubaron por 15 min en obscuridad, posteriormente, se agregó un ml de NED (N-(1-Naftil etilendiamina) y se dejó incubar otros 15 min en oscuridad. Finalmente se registró la absorbancia de las muestras a 540 nm.

8.8.6. Análisis de lipoperoxidación.

Se usó la prueba del ácido tiobarbitúrico (TBARS), el cual se basa en la cuantificación de productos de reacción de especies reactivas al oxígeno con los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares como el malondialdehído y las especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (Puntel, 2005).

Se tomó 0.1 ml del suero o del homogenado según corresponda, al cual se le agregó 0.1 ml de buffer TRIS-HCl, 0.1 ml de FeSO₄ y 0.1 ml de ácido ascórbico. Posteriormente se añadió 0.6 ml de agua destilada para completar el volumen de un ml. Esto se incubó a 37 °C por 15 minutos.

Al finalizar este lapso se añadió 1 ml de TCA y 2 ml de TBA, se incubaron por 15 minutos en baño María a 100 °C. Se centrifugaron a 3000 rpm por 10 minutos y se leyó el sobrenadante a 532 nm. La concentración de malondialdehído se calculó usando el coeficiente de extinción del complejo MDA-TBA el cual es $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ y los resultados se expresaron como nmol/mg de proteína.



8.8.7. Cuantificación de la actividad de catalasa

Se determinó de acuerdo a la metodología descrita por Chance y Machley (1995) se basa en la medición espectrofotométrica de la descomposición del peróxido de hidrógeno por la catalasa a 240 nm, se agregó 20 μL del homogenado de hígado de cada ratón a una solución de peróxido de hidrogeno, se realizó lectura cada 10 segundos por 3 minutos.

Finalmente, los resultados de las pruebas se expresan sobre mg de proteína, que se midió utilizando el método de Biuret, para cuantificar proteínas en suero y homogenado de hígado.



9. Resultados

9.1. Estudio etnobotánico

Con base en las entrevistas realizadas en la localidad de Limón chiquito, se obtuvo información acerca de los usos de *Momordica charantia* o mora como es conocida por los integrantes de la comunidad (Cuadro 4).

Cuadro 4.- Estudio etnobotánico de *Momordica charantia* en la comunidad de Limón chiquito Ver. México

Uso	Estructura de la planta a utilizar	Forma de preparación	cantidad	Forma de aplicación	No. de entrevista	Porcentaje %
presión	planta completa	cocimiento	un puño de planta en un litro de agua	ingestión oral	2	4
riñones	X	X	X	X	1	2
diabetes	planta completa	cocimiento	un rollo en un litro de agua	ingestión oral	13	26
próstata	planta completa	cocimiento	un rollo en un litro de agua	ingestión oral	2	4
latido	planta completa	cocimiento	X	ingestión oral	1	2
no lo conoce	X	X	X	X	31	62
total					50	100

X= información desconocida.

Como se puede observar en la Figura 8, la mayor parte de la población entrevistada no conoce algún uso medicinal que se le atribuya a esta planta, por lo que a pesar de ser abundante su uso no es muy popular en la comunidad, sin embargo, el uso más frecuente es como auxiliar en el control en la diabetes y los “niveles de azúcar”, por otro lado, su uso como tratamiento para las demás afecciones no es común.

De acuerdo con el Cuadro 4, los resultados de las entrevistas coinciden que para la preparación de esta planta se debe de utilizar la planta completa y se lleva a cabo por cocimiento con agua, finalmente, la dosis recomendada por la población es de un vaso diario por un mes o hasta la pérdida de los síntomas sin rebasar en ningún momento los 30 días.

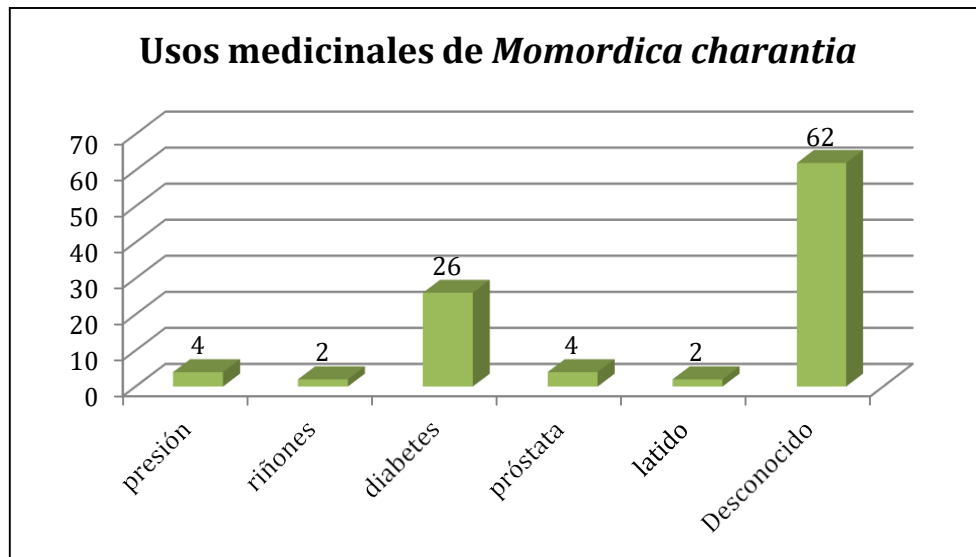


Figura 8. Usos medicinales de *Momordica charantia*. Se muestran los diferentes usos que se dan, se puede observar que la mayor parte de la población entrevistada no conoce a la planta, mientras que el uso más común es para tratar problemas relacionados con la diabetes.

Cuadro 5.- Nombres de *Momordica charantia* en Limón chiquito y Plan de limón

Nombre	No. de personas
Mora	9
Cundeamor	9
Guadalupana	3
Amor de un rato	1

Se muestran los nombres comunes con los que se conoce a *Momordica charantia* en la localidad de Limón Chiquito.



















9.2. Estudio fitoquímico

9.2.1. Identificación de metabolitos secundarios *in situ*

De acuerdo con la identificación *in situ* realizada, las partes de la planta con más metabolitos presentes son hoja, tallo y fruto. Sin embargo, en éste ultimo las coloraciones obtenidas fueron menos intensas que las observadas en los extractos de hoja y tallo. Por otro lado, el extracto con menor número de metabolitos presentes fue el extracto de hoja, donde solo se registró la presencia de Quinonas, Esteroles, Fenoles, saponinas y sesquiterpenlactonas.









Los metabolitos que se encuentran distribuidos en la planta son quinonas, esteroides, fenoles, taninos, saponinas y cumarinas ya que se identificaron en tres o todas las partes analizadas, por otra parte, los flavonoides solo se encontraron en fruto, así como los alcaloides en hoja y sesquiterpenlactonas en tallo y fruto (Cuadro 6).

Cuadro 6.- Resultados de la identificación de metabolitos secundarios <i>in situ</i> .						
Metabolito	Prueba	Extracto	HOJA	TALLO	FLOR	FRUTO
Quinonas	Reacción de Bornträger	Acuoso	++ 	++ 	+ 	- 
Flavonoides	Reacción de Shinoda	Acuoso	- 	- 	- 	+ 
Esteroides y esteroides	Lieberman	Clorofórmico	+ 	+ 	- 	+ 
	Salwoski	Clorofórmico	+++ 	+++ 	+++ 	+ 



Compuestos fenólicos	Reacción con cloruro férrico	Acuoso	++ 	+ 	+ 	- 
	Taninos	Grenetina-sal	Acuoso	+ 	+ 	- 
Alcaloides	Cloruro férrico	Acuoso	+ 	+ 	- 	+ 
	Formaldehído		- 	- 	- 	- 
	Wagner	Acuoso	+ 	- 	- 	- 
	Dragendorf	Acuoso	- 	- 	- 	- 
	Mayer	Acuoso	- 	- 	- 	- 
	Sesquiterpen-lactonas	Reactivo de baljet y clorhidrato de hidroxilmina		- 	+ 	- 



Saponinas	Espuma	Acuoso	+++	++	+	+
						
Cumarinas	Prueba de Baljet		-	+	+	++
						

+ Presencia escasa, ++ Presencia relativamente abundante, +++ Presencia abundante, - No detectado



7.2.1.2. Identificación de metabolitos secundarios por diluciones seriadas

Los extractos acuosos de hoja, tallo y planta completa presentaron en esta identificación el mayor número de metabolitos, no se observaron flavonoides en los tres extractos, mientras que las cumarinas solo se observaron en el extracto de hoja (Cuadro 7).

En los extractos de flor y fruto tienen menos metabolitos identificados y aunque no haya una diferencia significativa en el número de metabolitos si la hay en la concentración de estos, ya que en los extractos de hoja, tallo y planta completa los metabolitos se lograron identificar hasta la segunda dilución, mientras que en los extractos de flor y fruto solo se encontraron en la primera dilución.

Los metabolitos que no se encontraron presentes al realizar esta identificación son flavonoides que no se encontró en ningún extracto y cumarinas que solo se encontró en el extracto de hoja (Cuadro 7 y 8).



Cuadro 7.- Identificación de metabolitos secundarios por diluciones seriadas en extractos acuosos.

	Concentraci ón (g/mL)	Alcaloides			Taninos			Esteroles y Esteroides		Fenol es	Flavonoi de	Quinon as	Saponi na	Cumari na	Sesquiter pe- nactonas
		Wagn er	May er	Dragend orft	G- NaCl	Formaldehi do	FeCl 3	Salwos ki	Lieberm an	FeCl3			Espum a	Baljet	Baljet
Hoja	0.01	+	+	+	-	+	+	++	+	++	-	+	+++	+	++
	0.001	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	++	-	+
	0.0001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.00001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tallo	0.01	+	+	+	+	-	+	++	++	++	-	+	++	-	+
	0.001	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-
	0.0001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
	0.00001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flor	0.01	-	-	+	+	-	+	++	+	+	-	+	+	-	+
	0.001	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	0.0001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.00001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fruto	0.01	+	-	+	-	-	+	++	+	+	-	-	+	-	++
	0.001	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
	0.0001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.00001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Planta comple ta	0.01	+	++	+	+	+	+	+	+	+	-	+	++	-	+
	0.001	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-
	0.0001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
	0.00001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ Presencia escasa, ++ Presencia relativamente abundante, +++ Presencia abundante, - No detectado

Cuadro 8.- Identificación de metabolitos secundarios por diluciones seriadas en extractos hidroalcohólicos.

	Concentraci ón (g/mL)	Alcaloides			Taninos			Esteroles y Esteroides		Fenol es	Flavono ides	Quinon as	Saponi nas	Cumari nas	Sesquiter penlac tonas
		Wagn er	Maye r	Dragend orft	G- NaCl	Formaldeh ido	FeCl3	Salwo ski	Lieberm an	FeCl3			Espum a	Baljet	Baljet
Hoja	0.01	-	-	-	+	+	++	+++	+++	++	-	+++	+++	-	+
	0.001	-	-	-	+	-	+	++	++	+	-	++	++	-	-
	0.0001	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-
	0.00001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tallo	0.01	+	+	+	+	+	++	++	++	+	-	++	+++	++	+
	0.001	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-
	0.0001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.00001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flor	0.01	-	-	-		-	+	++	+	+	-	+	+++	++	++
	0.001	-	-	-		-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
	0.0001	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.00001	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fruto	0.01	-	-	-		-	+	++	+	+	-	+	+++	+	++
	0.001	-	-	-		-	-	+	-	-	-	-	++	-	-
	0.0001	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
	0.00001	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Planta comple ta	0.01	+	+	+	++	+	++	+++	++	++	-	++	+++	++	++
	0.001	-	-	-	+	+	+	++	+	+	-	+	++	+	-
	0.0001	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-
	0.00001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ Presencia escasa, ++ Presencia relativamente abundante, +++ Presencia abundante, - No detectado

9.2.2. Cuantificación de metabolitos secundarios

9.2.2.1. Alcaloides

Con los resultados de la cuantificación de alcaloides (Figura 9) podemos observar que los extractos con mayor concentración son los hidroalcohólicos de hoja y fruto, lo que indica que la extracción de estos metabolitos fue mejor utilizando en la extracción una solución hidroalcohólica.

Los extractos con las concentraciones más bajas son los extractos acuosos de flor, fruto, dosis recomendada y el extracto hidroalcohólico de tallo, este último a pesar de ser hidroalcohólico no tuvo altas concentraciones de alcaloides.

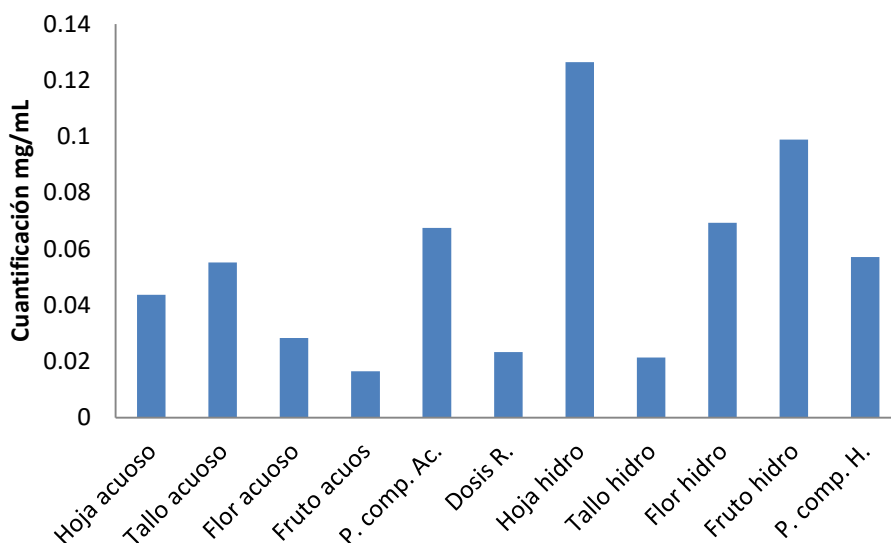


Figura 9. Cuantificación de alcaloides en extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Momordica charantia*.

9.2.2.2. Cumarinas

Se encontró que la extracción de estos metabolitos fue más eficiente en los extractos hidroalcohólicos, debido a que presentaron las concentraciones más elevadas (Figura 10), si comparamos los extractos acuosos de hoja y fruto con sus contrapartes en hidroalcohólicos notamos que la concentración en estos últimos es aproximadamente el doble que los primeros, mientras que al comparar los extractos acuosos de tallo y fruto acuosos e hidroalcohólicos observamos que estos últimos aumenta aproximadamente el triple, finalmente se puede observar que el extracto que supera a todos es el extracto de flor hidroalcohólico lo que demuestra que estos metabolitos si bien están presente en todos los extractos se concentran más en las flores de esta planta.



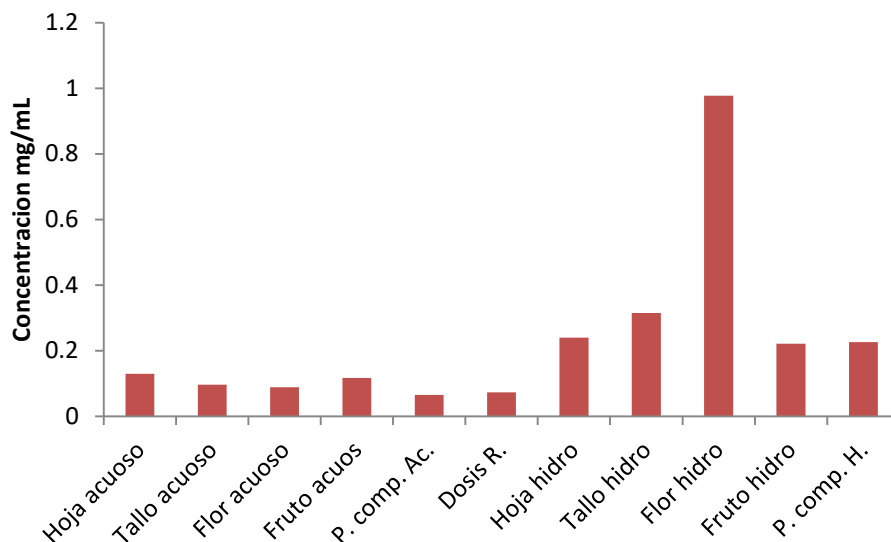


Figura 10. Cuantificación de cumarinas en extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Momordica charantia*.

9.2.2.3. Esteroles

Estos metabolitos se encontraron principalmente en los extractos hidroalcohólicos ya que en estos se encontró una mayor concentración exceptuando en extracto de fruto ya que tiene la concentración más baja dentro de los extractos hidroalcohólicos (Figura 11). Por otra parte, los extractos de hoja, tallo flor y planta completa mostraron los niveles más altos con una diferencia significativa respecto a los extractos acuosos. El extracto de hoja hidroalcohólico fue el que tuvo la concentración más alta.

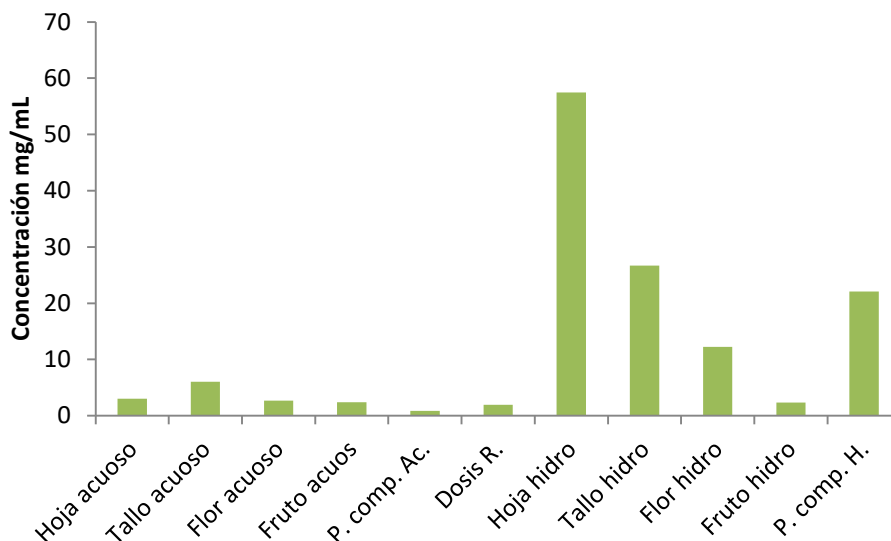


Figura 11. Cuantificación de esteroides en extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Momordica charantia*.



9.2.2.4. Fenoles

Los niveles de concentración de fenoles (Figura 12) presentaron el mismo comportamiento tanto en los extractos acuosos e hidroalcohólicos, lo que indica que los fenoles son extraídos de igual manera en extractos acuosos e hidroalcohólicos, solo el extracto de hoja fue el que presento una diferencia significativa entre el extracto acuosos y el hidroalcohólicos. Las partes de la planta con mayor concentración de fenoles son: hoja, tallo y fruto.

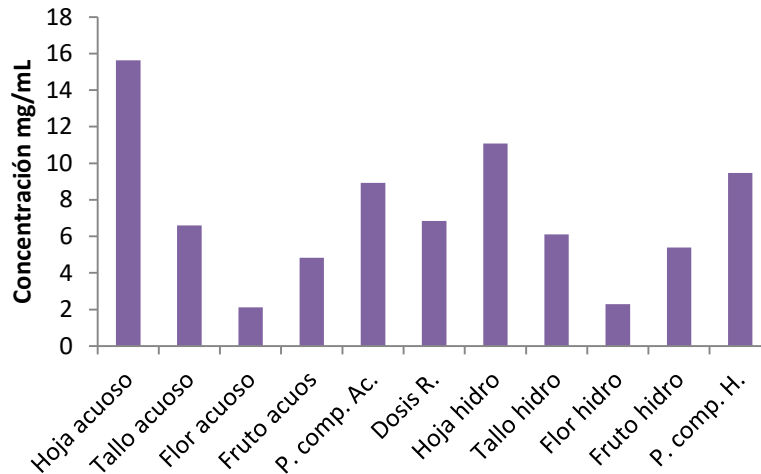


Figura 12. Cuantificación de fenoles en extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Momordica charantia*.

9.2.2.5. Flavonoides

La concentración de flavonoides tuvo un comportamiento similar al comparar entre acuosos e hidroalcohólicos por lo que la extracción fue similar. Los extractos con mayor concentración de estos metabolitos son los extractos de hoja y planta completa. Sin embargo, los extractos de tallo y fruto contienen también una concentración considerablemente mayor a los extractos de flor debido a que este último presentó los valores más bajos (Figura 13).

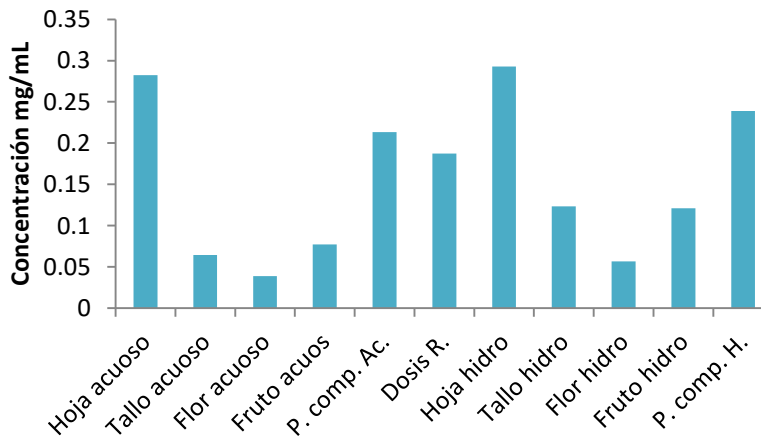


Figura 13. Cuantificación de flavonoides en extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Momordica charantia*.



9.2.2.6. Quinonas

Con la cuantificación de quinonas (Figura 14) podemos observar que estos metabolitos presentaron una mejor extracción en los extractos hidroalcohólicos ya que las concentraciones en estos extractos son mayores, sin embargo tanto en acuosos como en hidroalcohólicos presenta el mismo comportamiento, los extractos de hoja presentaron las concentraciones más altas, mientras que los extractos de tallo y planta completa tienen concentraciones por debajo del extracto de hoja y finalmente los extractos de fruto y flor tienen los valores más bajos.

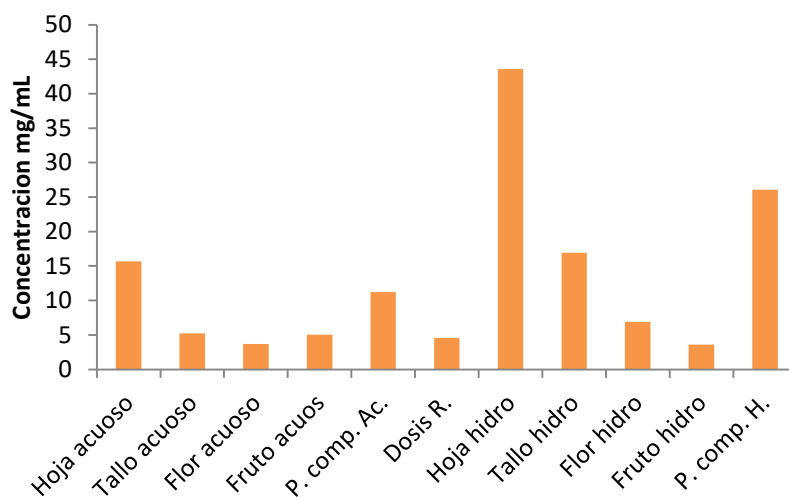


Figura 14. Cuantificación de quinonas en extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Momordica charantia*.

9.2.2.7. Sesquiterpenlactonas

La concentración de sesquiterpenlactonas en *Momordica charantia* demostró que la extracción de estos metabolitos fue más eficiente en los extractos hidroalcohólicos, debido a que en estos se obtuvieron las concentraciones más altas. Las concentraciones más altas se obtuvieron en los extractos de hoja tallo y planta completa hidroalcohólicos lo que demuestra que estos metabolitos se localizan principalmente en hojas y tallos, mientras que en el extracto de fruto la concentración obtenida fue muy baja (Figura 15).

En los extractos acuosos las concentraciones de estos metabolitos se mantienen en el mismo rango a excepción del tallo que mostró una concentración más elevada.



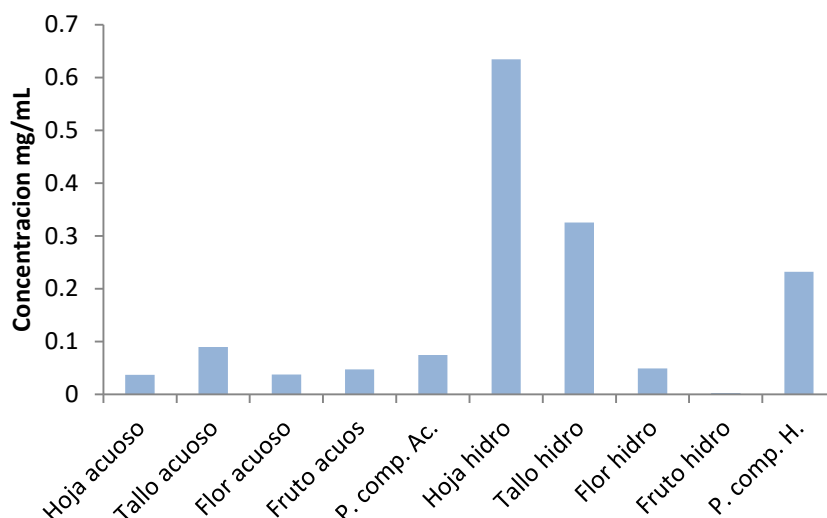


Figura 15. Cuantificación de sesquiterpenolactonas en extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Momordica charantia*.

9.2.2.8. Taninos

Las concentraciones más altas de taninos se encontraron principalmente en los extractos hidroalcohólicos, dentro de estos, las estructuras con mayor concentración de taninos son hoja y tallo, mientras que la estructura con menor concentración es el fruto.

Los extractos acuosos mostraron concentraciones más bajas en comparación con los extractos hidroalcohólicos, lo que indica que la extracción de estos metabolitos fue más eficiente en los extractos hidroalcohólicos (Figura 16).

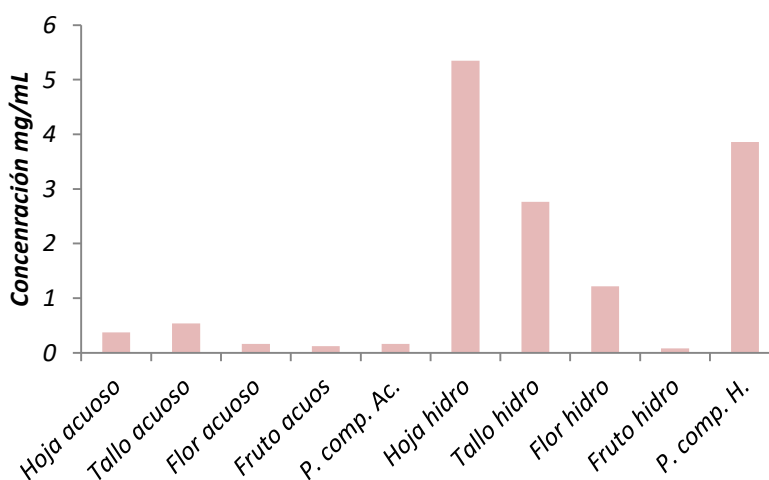


Figura 16. Concentración de taninos en extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Momordica charantia*.



9.2.2.9. Saponinas

Las saponinas fueron extraídas de forma similar por ambos solventes, las concentraciones son similares al comparar extractos acuosos e hidroalcohólicos, en ambos la mayor concentración se encuentra en los extractos de hoja y planta completa, mientras que los extractos de tallo, flor y fruto mostraron concentraciones más bajas (Figura 17).

Concentración de saponinas

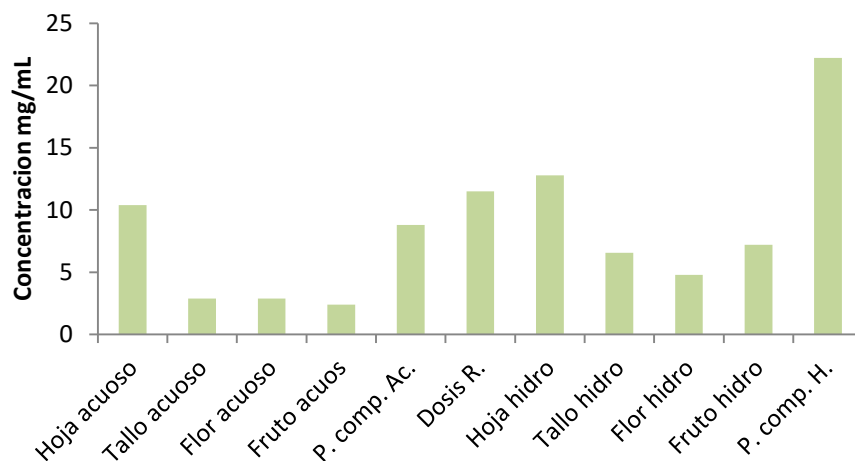


Figura 17. Concentración de saponinas en extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Momordica charantia*.

9.2.2.10. General

Finalmente, de manera general podemos observar que los alcaloides, esteroides, quinonas, cumarinas, tuvieron una mejor extracción en los extractos hidroalcohólicos en comparación con los extractos acuosos, mientras que flavonoides y fenoles fueron extraídos de igual manera por ambos solventes. Por otra parte, podemos observar que los extractos con mayor concentración de metabolitos son hoja, tallo y planta completa. Mientras que los metabolitos con mayor abundancia en *Momordica charantia* son fenoles, quinonas y esteroides.



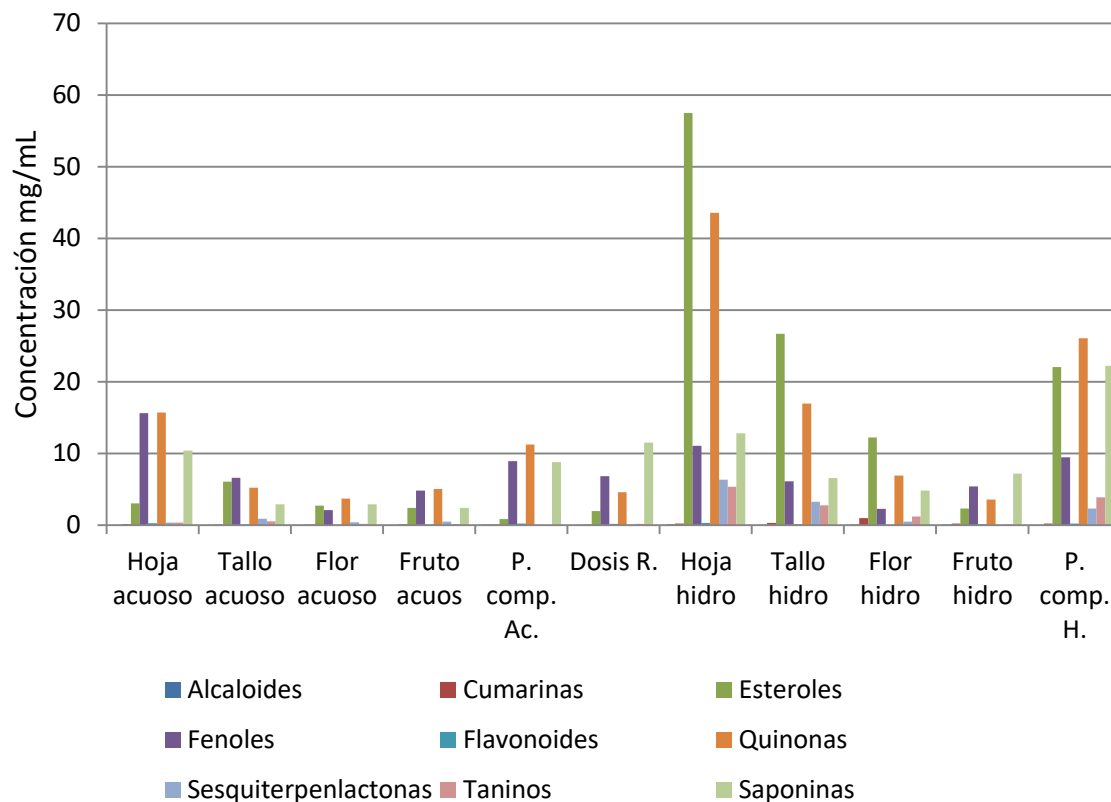


Figura 18. Concentración de metabolitos secundarios presentes en extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Momordica charantia*

Los extractos con mayor concentración de metabolitos son hoja, tallo y planta completa. Mientras que los metabolitos con mayor abundancia en *Momordica charantia* son fenoles, quinonas y esteroles.



9.2.3. Cuantificación de metabolitos primarios

9.2.3.1. Proteínas

El grupo con mayor concentración de proteínas es el extracto de flor hidroalcohólico que llega hasta 11.13 mg/ml, mientras que el segundo más alto es el extracto de hoja acuoso con 7.52 mg/ml de proteínas, mientras que la mayoría de los extractos mantienen concentraciones entre 4.2 y 6.5 mg/ml excepto los extractos de planta completa, fruto hidroalcohólico y fruto acuosos que tienen concentraciones más bajas que van de 2.2 a 3.4 mg/ml.

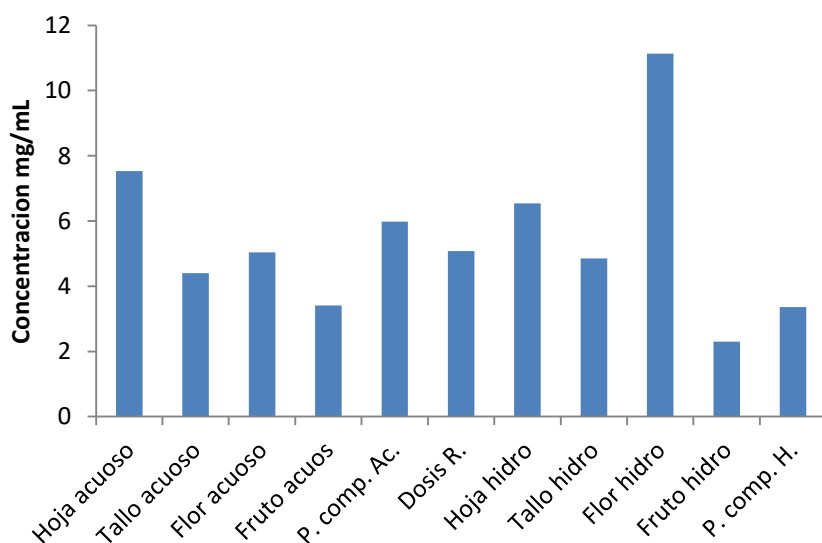


Figura 19. Concentración de proteínas en *Momordica charantia*.

9.2.3.2. Lípidos

De acuerdo con los resultados obtenidos se observa que la concentración de lípidos es mayor en los extractos de hoja y planta completa en comparación con los otros extractos, al comparar los extractos acuosos e hidroalcohólicos de hoja y planta completa, se observa que los hidroalcohólicos tienen mayor concentración de lípidos. Por otro lado, al comparar los extractos de tallo, flor y fruto se observa que entre extractos acuosos e hidroalcohólicos presenta concentraciones muy similares.



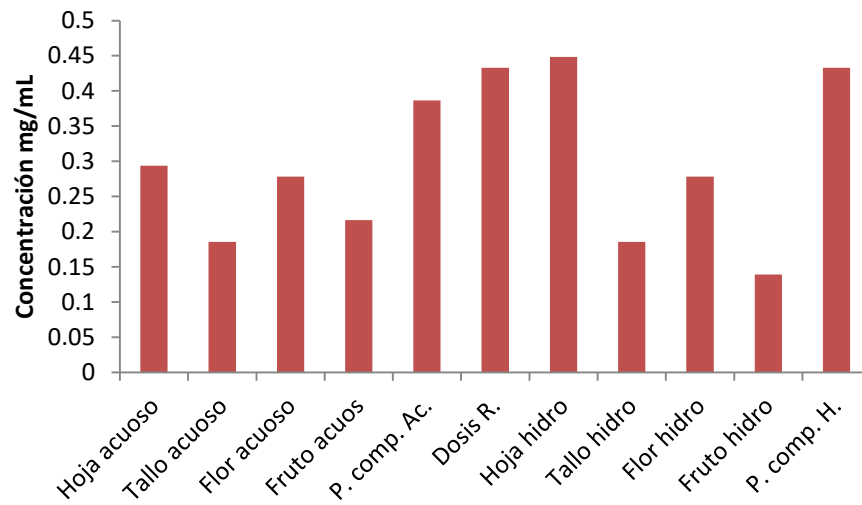


Figura 20. Concentración de lípidos en extractos de *Momordica charantia*



9.2.3.3. Carbohidratos

Dentro de los extractos acuosos la concentración de carbohidratos reductores es mayor que la concentración de carbohidratos no reductores, también dentro de los extractos acuosos el de mayor concentración es el de hoja, seguido de los extractos de fruto y planta completa que tienen concentración similar.

En los extractos hidroalcohólicos los dos extractos que presentaron la mayor concentración de carbohidratos fueron el de tallo y planta completa, en estos extractos también se observa que la concentración de los Carbohidratos reductores es menor a la de los carbohidratos no reductores, por otro lado en los extractos hidroalcohólicos de hoja, flor y fruto la concentración es mucho menor que en los otros dos extractos y los carbohidratos reductores se encuentran en niveles más altos que los carbohidratos no reductores.

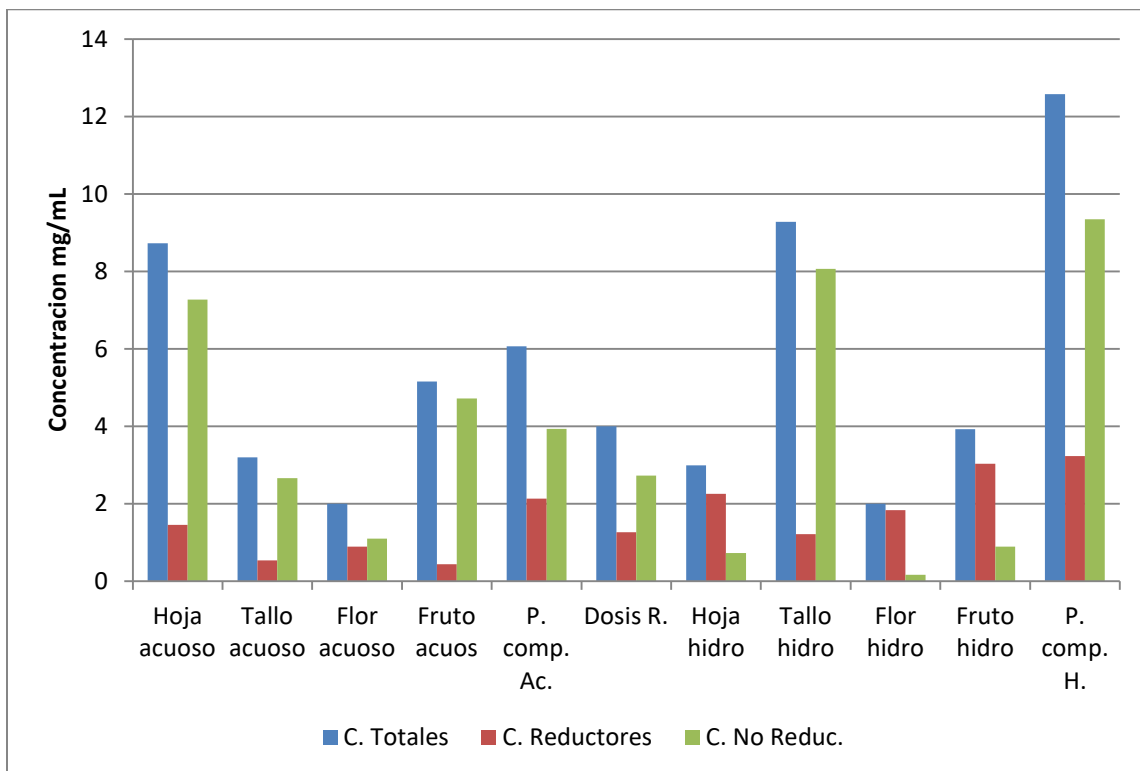


Figura 21. Concentración de carbohidratos totales, reductores y no reductores en *Momordica charantia*.

9.2.4. Cuantificación de la actividad antioxidante

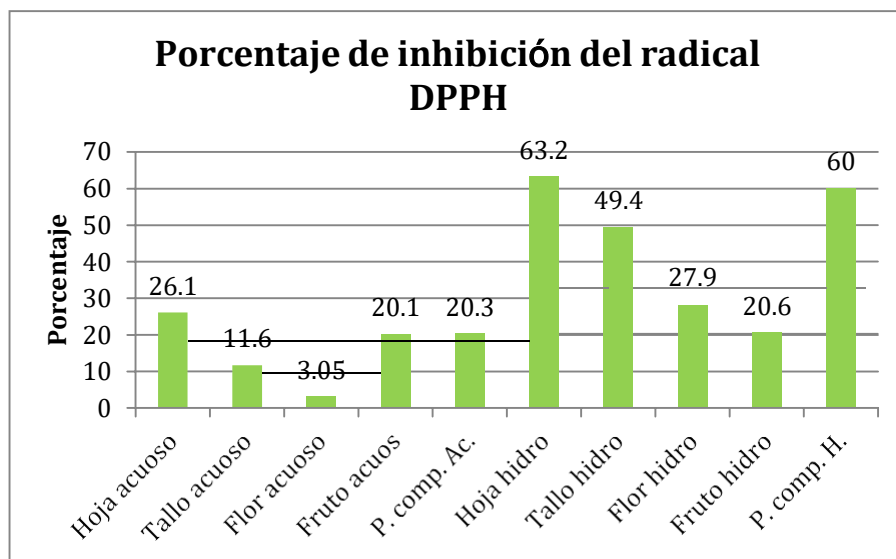


Figura 22. Porcentaje de inhibición del radical DPPH por *Momordica charantia*.

La actividad antioxidante fue mayor en los extractos hidroalcohólicos en comparación con los extractos acuosos. Dentro de los extractos acuosos los extractos que presentaron mayor actividad fueron los extractos de hoja fruto y planta completa cuya actividad va del 20 al 26%, mientras que los extractos de tallo y flor presentaron una actividad menor del 11 y 3% respectivamente.

En los extractos hidroalcohólicos los extractos de hoja y planta completa son los de mayor actividad antioxidantes, alrededor del 60%, los dos extractos con menor actividad son los extractos de flor y fruto donde la actividad es de 27 y 20% respectivamente.

Extractos		A. antioxidante	% de inhibición
Acuosos	Hoja	0.0766	26.1
	Tallo	0.0332	11.6
	Flor	0.0072	3
	Fruto	0.0587	20.1
	Planta completa	0.0592	20.3
Hidroalcohólicos	Hoja	0.1883	63.2
	Tallo	0.147	49.4
	Flor	0.0822	27.9
	Fruto	0.0603	20.6
	Planta completa	0.1786	60



9.3. Evaluación *in vivo* de la actividad anticancerígena

9.3.1. Concentración de nitritos en hígado

En comparación con el grupo de animales control, el tratamiento con el extracto de tallo obtuvo la mayor concentración de nitritos, mientras que con los demás extractos se observó un ligero aumento sin llegar a ser estadísticamente significativo (Figura 23).

Si comparamos el grupo control DMBA con los grupos tratados con extracto e inducidos con DMBA se puede observar que existe un aumento en la concentración de nitritos, el grupo inducido y tratado con planta completa tuvo el mayor aumento y es estadísticamente significativo, mientras que el grupo tratado con el extracto de tallo presentó el aumento más pequeño.

Es importante destacar que el extracto de tallo por sí solo provocó el aumento de la concentración de nitritos, mientras que cuando se aplicó en el grupo inducido con DMBA, presentó la mejor respuesta en la concentración de nitritos, con los extractos de hoja y planta completa ocurrió lo contrario ya que en los grupos que fueron inducidos presentaron mayor concentración y en los grupos que solo recibieron el extracto tuvieron concentraciones más bajas.

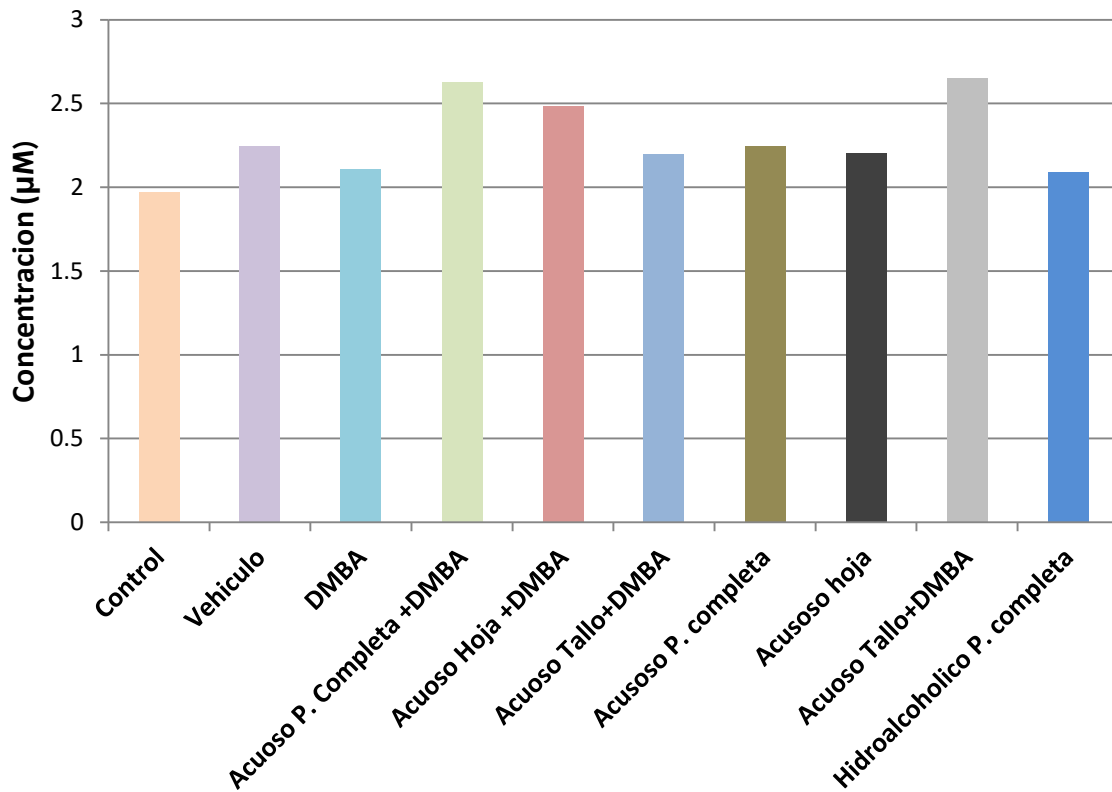


Figura 23. Efecto en la concentración de nitritos de los extractos de *Momordica charantia* en hígado (µM).

9.3.2. Concentración de nitritos en sangre.

Si comparamos el control de DMBA con los grupos inducidos con DMBA y tratados con los diferentes extractos se observa que en los tres grupos disminuye la concentración de nitritos, el grupo tratado con el extracto de planta completa presentó la mayor reducción de la concentración de nitritos, lo que demuestra que tiene mejor actividad antioxidante.

Sin embargo, al comparar el control con los grupos tratados solo con los extractos de planta completo hidroalcohólico y hoja acuoso muestran un aumento en la concentración de nitritos lo que indica que presentan actividad prooxidante actuando en condiciones normales.

El extracto de planta completa acuoso presentó una mayor actividad antioxidante, debido a que redujo la concentración de nitritos tanto en condiciones normales como el grupo inducido con DMBA donde la concentración disminuyó al mismo nivel que el grupo control. Sin embargo, el análisis estadístico no mostró diferencias significativas en los grupos.

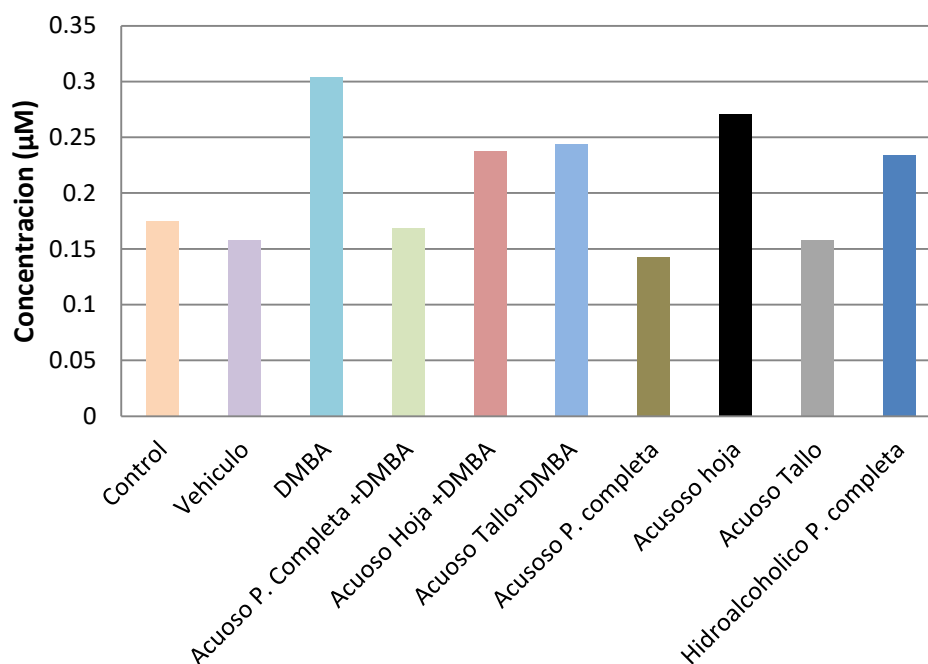


Figura 24. Concentración de nitritos en sangre (µM).

9.3.3. Actividad de Catalasa en Hígado

Comparando el grupo control con los grupos tratados solo con los extractos podemos observar que el extracto de planta completa mantuvo la misma actividad de catalasa, mientras que los extractos de hoja, tallo y planta completa hidroalcohólico redujeron la



actividad de catalasa, aunque no de manera significativa.

Por otro lado los grupos inducidos con DMBA presentaron un comportamiento más irregular respecto al control de DMBA, el extracto de planta completa contrario a lo que sucedió en el grupo sin inducir, tuvo el nivel más bajo de actividad, el extracto de hoja mantuvo el mismo nivel que el control DMBA e igual muy cercano al nivel que tuvo en el grupo no inducido, finalmente el grupo tratado con el extracto de tallo fue el que presentó un nivel de actividad mayor que no presentó al administrarse en el grupo no inducido.

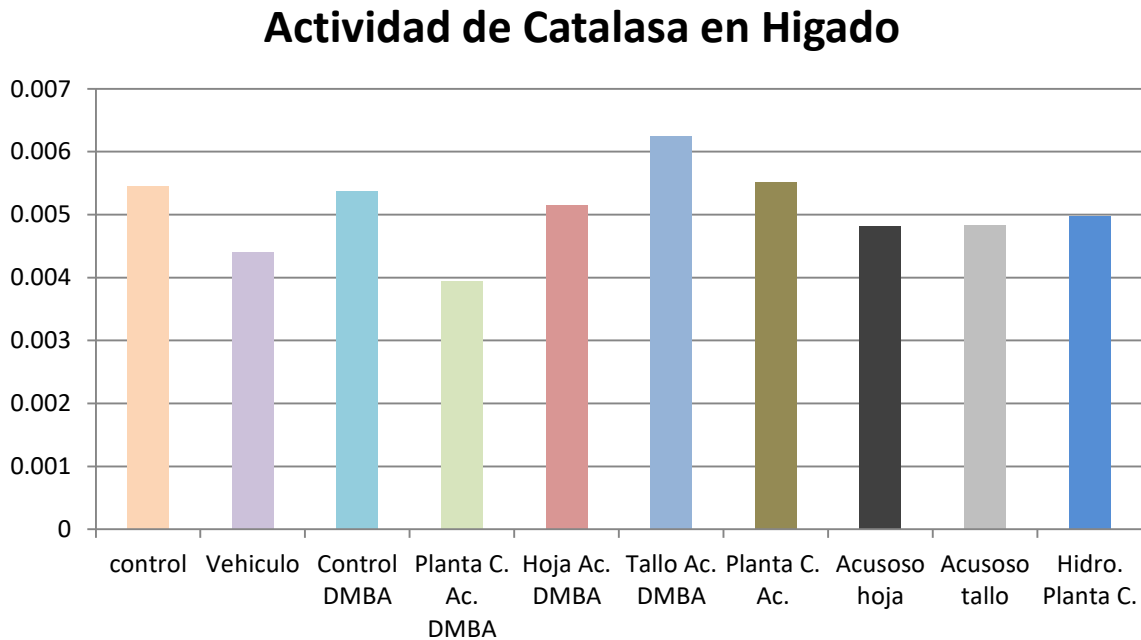


Figura 29. Actividad de catalasa en hígado.

9.3.4. Evaluación de Lipoperoxidación en sangre

Los grupos tratados solo con los extractos, mostraron niveles similares al grupo control exceptuando al grupo tratado con tallo, el cual tuvo el nivel más alto dentro de los grupos no inducidos sin embargo el mismo extracto de tallo aplicado en el grupo inducido tuvo el nivel de lipoperoxidación más bajo comparándolo con los grupos inducidos, lo que indicaría que fue el extracto que redujo el daño a los lípidos causado por el estrés oxidativo.

Si bien los extractos de hoja y planta completa acuoso en los grupos inducidos disminuyeron los niveles de lipoperoxidación no hay mucha diferencia en comparación con el grupo control de DMBA. Las diferencias no son estadísticamente significativas.



Liperoxidación en suero

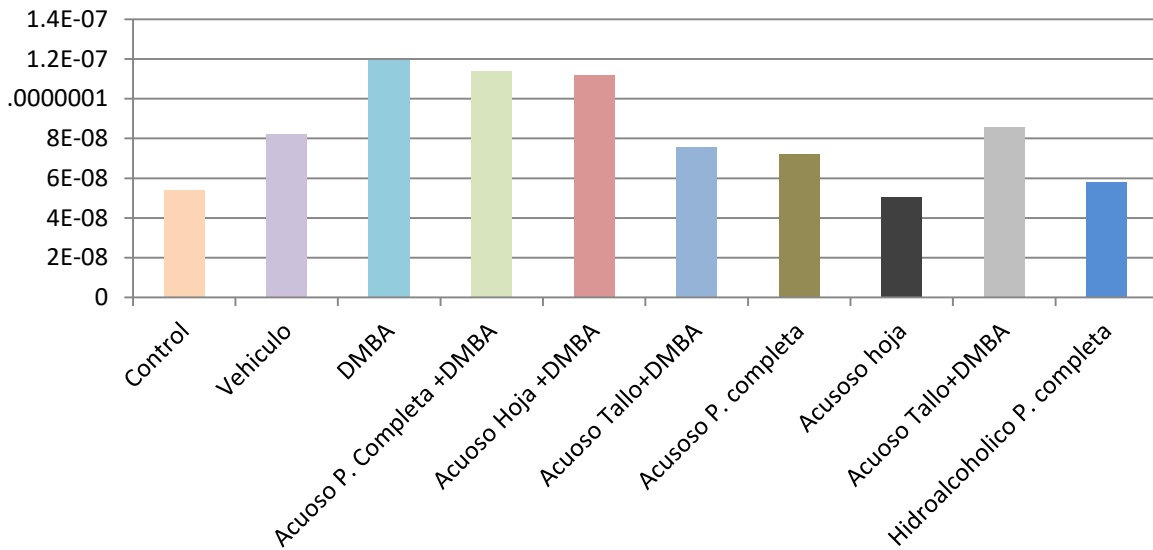


Figura 30. Cuantificación de liperoxidación en sangre.

9.3.5. Liperoxidación en Hígado

Los niveles de liperoxidación en hígado fueron similares en todos los grupos, el análisis estadístico no mostro diferencias significativas. Sin embargo, en el grupo inducido y tratado con el extracto de tallo mostro una tendencia a concentraciones mayores en comparación con el grupo tratado solo con el extracto de tallo.

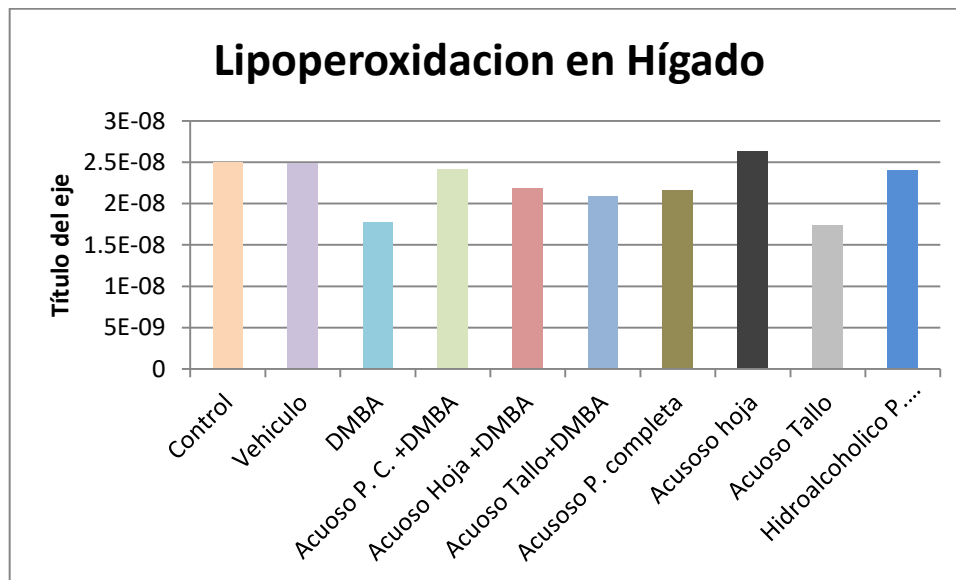


Figura 31. Cuantificación de liperoxidación en sangre.



8. Discusión

Momordica charantia es una especie vegetal que ha sido ampliamente estudiada debido a los distintos usos medicinales que se le atribuyen en diferentes partes del mundo. Sin embargo, en México los estudios realizados son pocos y se concentran en la región del sureste del país. De acuerdo a diversos estudios etnobotánicos (Thirumalai, 2012; Elavarasi, 2012; Karou, 2011; Irawan, 2006; Soria, 2020; Abo, 2008; Villareal, 2015; Villareal-Ibarra, 2015) y a la presente investigación, el principal uso medicinal que se le atribuye a esta planta es como tratamiento de la diabetes, así como en la regulación de los niveles de glucosa en sangre.

Se han reportado su uso en la estimulación del sistema digestivo, fortalecimiento del hígado, el tratamiento para la fiebre, el resfriado, gripe, malaria, neumonía, cáncer, el colesterol alto, problemas de la piel (Kumar, 2010; Sánchez, 2016; Manzoor, 2012; Abe, 2013). Sin embargo, estos usos no fueron referidos por las personas de la comunidad de Limón Chiquito en las entrevistas realizadas. Por otro lado, en el estudio etnobotánico se reportaron usos que no han sido mencionados en estudios previos, los cuales son en el tratamiento de enfermedades relacionadas con la presión arterial, los riñones y el corazón

En la mayoría de las investigaciones realizadas, las partes de la planta más utilizada son la planta completa, la hoja y el fruto; siempre se preparan por cocción, lo que coincide con los resultados obtenidos en la localidad de Limón Chiquito Ver.



A pesar de que en el presente estudio no se reporta el uso de *M. charantia* en el tratamiento de cáncer, Quílez Guerrero (2006) realizó un estudio en la zona del Caribe donde reporta que esta especie es utilizada para tratar procesos inflamatorios y cancerígenos, lo atribuye a la presencia de compuestos como terpenos en las hojas, alcaloides, esteroides y saponinas en el fruto.

Los metabolitos secundarios presentes en las plantas tienen efectos en la salud de las personas y algunos de ellos han sido utilizados para la obtención de medicamentos (Esquivel, 2012). Por lo tanto, la identificación de metabolitos secundarios resulta importante para el estudio de plantas medicinales.

Los compuestos fenólicos son el grupo de metabolitos más amplio y diverso, se ha comprobado que presentan actividades biológicas como antioxidante, anticancerígena, antiangiogénica y antiproliferativa (Wang, 2012; Roby, 2013). Estos compuestos fueron identificados en todas las estructuras de la planta, principalmente en los extractos de planta completa y hoja. Estos datos concuerdan con las investigaciones realizadas a *M. charantia*, donde se reportó la presencia de compuestos fenólicos en extractos de planta completa acuosa y etanólica (Mada, 2013; Oragwa, 2013; Quispe, 2018; Cervantes, 2017; Inmaculate, 2015; Prarthna, 2014; Semeniuk, 2018).

Dentro del grupo de los compuestos fenólicos también se encuentran los flavonoides, quinonas y taninos. Los flavonoides han sido identificados por diversos autores en *M. charantia* (Mada, 2013; Oragwa, 2013; Prarthna, 2014; Quispe, 2018; Cervantes, 2017; Inmaculate, 2015; Semeniuk, 2018). Sin embargo, no se logró detectar a este grupo de compuestos en el presente estudio, esto puede ser debido a la sensibilidad de la prueba utilizada, así como a la ausencia de flores y frutos durante la recolección, puesto que, la función principal de este metabolito es la pigmentación de flores y frutos (Gordo, 2018).

Por su parte las Quinonas han sido identificadas en extractos etanólicos, clorofórmicos y acuosa de hoja, semilla y fruto de *M. charantia* (Semeniuk, 2018). Este metabolito fue identificado en todos los extractos excepto en el de fruto acuoso, es importante resaltar que en los extractos hidroalcohólicos de las todas estructuras las quinonas están presentes de manera abundante, detectándose en concentraciones de 0.001 g/ml.

Los taninos se han encontrado en extractos acuosa e hidroalcohólicos de hoja, planta completa, semilla y fruto (Mada, 2013; Prarthna, 2014; Quispe, 2018; Inmaculate, 2015; Semeniuk, 2018), observamos la presencia de taninos principalmente en hoja, tallo y planta completa, así como en flor y fruto, pero en menor concentración (Cuadro 8).

Otro grupo de metabolitos importantes son los alcaloides a los que se les han atribuido propiedades antioxidantes importantes (Pérez, 2003), en los extractos acuosa de hoja, tallo y planta completa se identificaron alcaloides por tres métodos distintos, mientras que en los extractos de flor y fruto solo fueron detectados por una de las tres pruebas. Por otro lado, en los extractos hidroalcohólicos solo se identificaron en tallo y planta completa. La presencia de estos metabolitos en *M. charantia* ha sido determinada en hoja y planta



completa por diversos estudios tanto en extractos acuosos como hidroalcohólicos (Mada, 2012; Prarthna, 2014; Jaramillo, 2020; Quispe, 2018; Cervantes, 2017)

Las saponinas y los esteroides son metabolitos presentes en *M. charantia* de acuerdo a diversos análisis, (Sood, 2012; Mada, 2013; Oragwa, 2013; Prarthna 2014; Jaramillo, 2020; Cervantes, 2017; Semeniuk, 2018). Las saponinas fueron identificadas en todos los extractos, con mayor concentración en los extractos de hoja, tallo y planta completa, son los metabolitos que se presentaron en mayor abundancia en esta especie. Por otro lado, los esteroides fueron identificados en todas las estructuras, sin embargo, se observó una mayor concentración en los extractos hidroalcohólicos donde se detectó su presencia en las diluciones con concentración de 0.0001 g/ml en los extractos de hoja y planta completa.

Un grupo de metabolitos que no han sido ampliamente estudiados en *M. charantia* son las cumarinas, puesto que solo han sido reportadas en los estudios de Prarthna (2014) y Cervantes (2017). En el presente estudio la presencia de cumarinas solo se observó en todos los extractos hidroalcohólicos excepto en el de hoja. Las cumarinas son principalmente solubles en metanol o etanol, se localizan principalmente en frutos y semillas (Cueva, 2013).

En estudios previos realizados a *M. charantia* no se ha reportado la presencia de sesquiterpenlactonas, sin embargo, se demostró la presencia de estos metabolitos en extractos acuosos e hidroalcohólicos de todas las estructuras, aunque en bajas concentraciones, esto debido a la polaridad de este metabolito ya que son poco solubles en etanol y metanol e insolubles en agua (Choquelahua, 2018).

La cuantificación de metabolitos secundarios mostró que, en los extractos de hoja, tallo y planta completa la concentración de fenoles, flavonoides, quinonas, taninos y saponinas, fue mayor en comparación con los extractos de flor y fruto donde las concentraciones obtenidas fueron menores, lo que indica que estos metabolitos a pesar de estar presentes en toda la planta, tienen mayor presencia en las hojas y tallos.

Es importante destacar que alcaloides, cumarinas, esteroides, quinonas, taninos y sesquiterpenlactonas presentaron concentraciones mayores en los extractos hidroalcohólicos en comparación con los acuosos. Por otro lado, las saponinas, fenoles y flavonoides, obtuvieron concentraciones similares entre extractos acuosos e hidroalcohólicos.

Los metabolitos que se presentaron en mayor concentración, son quinonas, saponinas, fenoles, y esteroides, mientras que cumarinas alcaloides y flavonoides a pesar de estar presentes en todas las estructuras se encuentran en bajas concentraciones.

La producción de los metabolitos secundarios pertenecientes al grupo de los compuestos fenólicos en *M. charantia* se da principalmente en los extractos de hoja y tallo por la ruta del ácido shikímico y del ácido mevalónico, pues se sintetizan a partir de los aminoácidos presentes en las proteínas.



De igual manera los esteroides y saponinas se sintetizan por la vía del ácido mevalónico a partir de lípidos y carbohidratos, en los extractos de hoja, tallo y planta completa la producción de estos metabolitos es más activa en comparación con otras estructuras.

Los resultados de la prueba de actividad antioxidante demostraron diferencias entre los extractos hidroalcohólicos y acuosos, los primeros mostraron niveles más altos de actividad antioxidante, debido principalmente a que metabolitos como taninos, sesquiterpenlactonas, quinonas, esteroides, cumarinas presentaron concentraciones más altas en extractos hidroalcohólicos en comparación con los extractos acuosos.

Los extractos de tallo, hoja y planta completa tuvieron mayor concentración de metabolitos, también son los extractos que tuvieron mayor actividad antioxidante, mientras que los extractos de En el estudio realizado por Semenuk (2018) se analizó la actividad antioxidante de extractos de *M. charantia* observando el mismo comportamiento, las partes con mayor actividad fueron las hojas mientras que las semillas y frutos mostraron niveles más bajos.

Efecto de los extractos de *M. charantia* en la concentración de nitritos en hígado

El grupo que fue tratado solo con el extracto de tallo acuoso presentó la concentración más alta de nitritos, esto se le puede atribuir a la presencia de sesquiterpenlactonas, alcaloides y cumarinas en concentraciones altas, aunque existen estudios sobre alcaloides con propiedades antitumorales y antioxidantes (Ávila, 2006), los alcaloides son sustancias que en altas concentraciones son tóxicos y provocan efectos adversos, debido a su similitud química con moléculas que participan en la transmisión de señales del sistema nervioso y a su capacidad de intercalarse en el ADN, además de poder actuar como prooxidante (Jiménez, 2003; Pérez 2003; Chávez, 2013), mientras que las cumarinas son compuestos que actúan como antioxidantes, inhibidores enzimáticos, precursor de sustancias tóxicas y se ha demostrado que diversas de ellas pueden ser utilizadas en el tratamiento de algunos tipos de cáncer (Dionicio, 2017). El extracto de tallo fue el que presentó la mayor concentración de sesquiterpenlactonas, las cuales, a pesar de tener capacidad antioxidante, en grandes concentraciones se considera tóxico, provoca mutaciones en el ADN, altera proteínas y aumenta el estrés oxidativo (Guillen, 2016).

En el grupo inducido con DMBA y tratado con el extracto acuoso de tallo, tuvo las concentraciones más bajas de nitritos dentro de los grupos inducidos, lo que indicaría que el extracto de tallo en condiciones normales produce un aumento en la concentración de nitritos que a su vez indica un mayor estrés oxidativo, mientras que aplicado en condiciones de estrés muestra una disminución en la concentración de nitritos y por lo tanto en el estrés oxidativo.

Por otro lado, en los extractos de planta completa y hoja acuosos en condiciones normales presentaron concentraciones bajas mientras que en condiciones de estrés aumentaron las concentraciones de nitritos.

Efecto de extractos de *M. charantia* en la concentración de nitritos en sangre



El grupo tratado con planta completa presento la concentración de nitritos más baja en comparación con **los grupos tratados,** debido a la presencia de alcaloides, ya que el extracto de planta completo fue el que tuvo la mayor concentración de este metabolito dentro de los extractos acuosos, los alcaloides han demostrado tener actividad antioxidante, antirradical y prooxidante (Pérez, 2003). La concentración de saponinas en el extracto de planta completa fue de las más altas que se obtuvieron, estos metabolitos tienen diferentes propiedades biológicas, ha sido usado como antimicrobiano, anticancerígeno y hemolítico, estas actividades pudieron ocasionar las disminuciones de nitritos en la sangre (Puentes, 2009).

De los grupos que no fueron inducidos solo el extracto de hoja fue el que presento valores altos en la concentración de nitritos, lo que también puede ser influenciado por los metabolitos presentes en hoja, ya que en este extracto se identificaron concentraciones altas de quinonas, fenoles y saponinas. Las quinonas poseen efectos tóxicos, tienen la capacidad de realizar ciclos redox y producir especies reactivas de oxígeno por reacciones en cadena de propagación de radicales libres, sin embargo, en pequeñas concentraciones tiene actividad antimicrobiana y antitumoral (Quintero, 2016).

Efecto de extractos de *M. charantia* en la actividad de catalasa en hígado.

El grupo con mayor actividad de catalasa fue el inducido con DMBA y tratado con extracto de tallo acuoso, pudo ser producido por la presencia de sesquiterpenlactonas, taninos y esteroides. Las sesquiterpenlactonas están relacionados con procesos inflamatorios que alteran el funcionamiento normal de las células (Zermeño, 2013), mientras que los taninos y esteroides en pequeñas concentraciones poseen actividades benéficas, sin embargo, en grandes cantidades tienen efectos tóxicos para la salud (Bada, 2009)

El grupo con menor actividad de catalasa fue el inducido con DMBA y tratado con el extracto de planta completa, mientras que, los demás grupos se mantuvieron constantes.

Efecto de extractos de *M. charantia* en la oxidación de lípidos en sangre

Dentro de los grupos inducidos con DMBA el que presento niveles más bajos de lipoperoxidación fue el extracto acuoso de tallo donde se tiene la presencia de cumarinas y alcaloides, a estos metabolitos se le puede atribuir esta respuesta, debido a que además de presentar actividades antitumorales y anticancerígenas han demostrado tener actividad antioxidante.

El grupo tratado con el extracto de planta completa hidroalcohólico presento los niveles de lipoperoxidación más bajos, en este extracto se encontró el mayor número de metabolitos (Esteroides, fenoles, quinonas, flavonoides, taninos y saponinas).



9. Conclusiones

- En la comunidad de Limón Chiquito el principal uso de *Momordica charantia* fue en el tratamiento de la diabetes aunque, también es utilizada en el tratamiento de enfermedades de la próstata, riñones y la presión arterial.
- En los extractos acuosos e hidroalcohólicos se encontraron fenoles, quinonas, flavonoides, saponinas, alcaloides, esteroides, sesquiterpenlactonas, taninos y cumarinas en todas las estructuras de la planta, siendo las saponinas, fenoles y esteroides los que se encontraron en mayor concentración.
- En los extractos de hoja y tallo se encontró el mayor número de metabolitos y con mayor concentración en comparación con las demás estructuras.
- Los extractos hidroalcohólicos de tallo, hoja y planta completa al tener mayor concentración de metabolitos secundarios mostraron poseer mayor actividad antioxidante.
- El extracto de tallo demostró que en condiciones normales actúa como oxidante debido al aumento en la concentración de nitritos y de la lipoperoxidación, sin embargo en condiciones de estrés oxidativo actúa como antioxidante controlando los niveles de lipoperoxidación y nitritos.
- La alta concentración de metabolitos secundarios presente en extractos de *Momordica charantia*, le otorga características oxidantes, en condiciones normales así como en el modelo murino de cáncer.

10. Bibliografía

- Abo, K. A., Fred-Jaiyesimi, A. A., & Jaiyesimi, A. E. A. (2008). Ethnobotanical studies of medicinal plants used in the management of diabetes mellitus in South Western Nigeria. *Journal of ethnopharmacology*, 115(1), 67-71.
- Ahumada, A., Ortega, A., Chito, D., & Benítez, R. (2016). Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 45(3), 438-469.
- Arranz, M., Esteban, M., Palacios M. (1994). Metodos recomendados para la determinación de la concentración de colesterol en suero o plasma y en otros especimenes biológicos. *Química clínica*. 13(7):496-503.
- Avalos García, A., & Pérez-Urria Carril, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*, 2(3).
- Avella, D. M. G., García, C. A. O., & Cisneros, A. M. (2008). Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. In *Memorias del Simposio de Metrología*. Universidad Autónoma de Querétaro. Centro Nacional de Querétaro.
- Ávila, E. V., Lezama, R. V., & Estrada, M. J. (2006). Las plantas como fuente de compuestos antineoplásicos. *Revisión. Bioquímica*, 31(3), 97-111.



- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*,
- Bada Barro, A. M., Santana Romero, J. L., González Navarro, B. O., González Torres, Y., González Triana, C., Arteaga Pérez, M. E. & Mancebo Rodríguez, A. A. (2009). Toxicidad crónica de polvo de taninos obtenidos de corteza de *Pinus caribaea* Morelet por vía oral en ratas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 14(1).
- Bakare, R. I., Magbagbeola, O. A., & Okunowo, O. W. (2010). Nutritional and chemical evaluation of *Momordica charantia*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(21), 2189-2193.
- Barrera, C. A. C., Parra, J., & Suarez, L. E. C. (2014). Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie *Raputia heptaphylla* (rutaceae). *Elementos*, 4(4), 31-39.
- Bartosz, G. (2009). Reactive oxygen species: destroyers or messengers?. *Biochemical pharmacology*, 77(8), 1303-1315.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9-19.
- Bravo, M., & Jiménez, G. (2011). Estimación del periodo de conservación de plantas medicinales en fundas de papel a través de la cuantificación de compuestos fenólicos.
- Camacho, C., H. (2012). Innovación de un Método Analítico para la Cuantificación de Taninos en una Formulación Magistral para un Enjuague Bucal de Extracto de Encino (Doctoral dissertation, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO).
- Carrillo Esper, R., Díaz Ponce Medrano, J. A., Peña Pérez, C. A., Flores Rivera, O. I., Neri Maldonado, R., Zepeda Mendoza, A. D. & Ortiz Trujillo, A. (2016). Especies reactivas de oxígeno, sepsis y teoría metabólica del choque séptico. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 59(1), 6-18.
- Carvajal, R., Hata, Y., Sierra, N., & Rueda, D. (2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de Cupatá (*Strychnos schultesiana* krukoff). *Colombia Forestal*. 12: 161-70.
- Castellanos, S. H., Balboa, P. G., Calderón, I. L. T., Casas, M. Á. O., & Lamadrid, J. V. (2009). Cáncer de mama. In *Anales de Radiología, México* (Vol. 8, No. 1, pp. 117-126).
- Cervantes Ceballos, L., Sánchez Hoyos, F., & Gómez Estrada, H. (2017). Antibacterial activity of *Cordia dentata* Poir, *Heliotropium indicum* Linn and *Momordica charantia* Linn from the Northern Colombian Coast. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 46(2), 143-159.
- Chance, B. and Machley, A.C. (1955) Assay of Catalase and Peroxidase. *Methods in Enzymology*, 2, 764-775.



- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3):178-182.
- Chávez Gonzales, L. M., & Gutiérrez Condori, D. A. (2013). Estudio fitoquímico y evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L. Palma real.
-
- Chihuailaf, R. H., Contreras, P. A., & Wittwer, F. G. (2002). Patogénesis del estrés oxidativo: consecuencias y evaluación en salud animal. *Veterinaria México*, 33(3), 265-283.
- Choudhury, F. K., Rivero, R. M., Blumwald, E., & Mittler, R. (2017). Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *The Plant Journal*, 90(5), 856-867.
- Civetta, María & Civetta, Julio. (2011). Carcinogénesis. *Salud pública de México*. 53(5), 405-14.
- Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M., & Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista chilena de nutrición*, 42(2), 206-212.
- Dandawate, P. R., Subramaniam, D., Padhye, S. B., & Anant, S. (2016). Bitter melon: a panacea for inflammation and cancer. *Chinese journal of natural medicines*, 14(2), 81-100.
- Dandawate, P. R., Subramaniam, D., Padhye, S. B., & Anant, S. (2016). Bitter melon: a panacea for inflammation and cancer. *Chinese journal of natural medicines*, 14(2), 81-100.
- De OLIVEIRA, K. D., Avanzo, G. U., Tedardi, M. V., Rangel, M. M. M., Avanzo, J. L., Fukumasu, H., & Dagli, M. L. Z. (2015). Chemical carcinogenesis by DMBA (7,12-dimethylbenzanthracene) in female BALB/c mice: new facts. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 52(2), 125-133.
- De Oliveira, M. S., da Costa, W. A., Bezerra, F. W. F., Araujo, M. E., Ferreira, G. C., & de Carvalho Junior, R. N. (2018). Phytochemical profile and biological activities of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae): A review. *African Journal of Biotechnology*, 17(27), 829-846.
- Devi, G. R., Allensworth, J. L., Evans, M. K., & Sauer, S. J. (2014). The role of oxidative stress in breast cancer. In *Cancer* (pp. 3-14). Academic Press.
- Dewick, P. M. (2002). *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. John Wiley & Sons.
- Díaz, A. (2003). La estructura de las catalasas. *REB*, 22(2), 76-84.
- Dionicio Díaz, J. E. (2017). Síntesis y caracterización de complejos de Cinc (II) con ligandos derivados de la Cumarina-3-ácido carboxílico de interés como metalofármacos alternativos en el tratamiento del Cáncer. Pontificia universidad católica del Perú.
- Domínguez, X. (1973). *Métodos de investigación fitoquímica*. México. Limusa
- Elavarasi, S., & Saravanan, K. (2012). Ethnobotanical study of plants used to treat diabetes by tribal people of Kolli Hills, Namakkal District, Tamilnadu, Southern India. *Int J Pharm Tech Res*, 4(1), 404-411.



- Elejalde Guerra, J. I. (2001, Junio). Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. In *Anales de medicina interna* (Vol. 18, No. 6, pp. 50-59). Arán Ediciones, SL.
- Esquivel-Gutiérrez, E., Noriega-Cisneros, R., Bello-González, M., Saavedra-Molina, A., & Salgado-Garciglia, R. (2012). Plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana con propiedades antidiabéticas y antihipertensivas. *Biológicas*, 14(1), 45-52.
- Estrada-Carrasco, C. E., Flores-Terrazas, J. E., Floriano-Sánchez, E., Castro-Marín, M., López-Silvestre, J. L., Campos-Salcedo, J. G. & Cárdenas-Rodríguez, N. (2010). Regulación de enzimas antioxidantes como marcadores tumorales de la próstata. *Revista Mexicana de Urología*, 70(3), 157-163.
- Fagali, N. S. (2011). Peroxidación de diferentes especies lipídicas: efecto de antioxidantes (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).
- Familia, V., Craveiro, M. & Uong, D. M. (2010). Cuantificación espectrofotométrica de nitritos en embutidos de carne producidos en Angola. *Revista Cubana de Química*, 22(3), 99-102.
- Feduchi Conosa, E. (2010). Bioquímica, conceptos esenciales. In *Bioquímica, conceptos esenciales* (pp. 379-379).
- Flores Ramos, L., & Ruiz Soto, A. (2017). Implementación de una metodología analítica para la cuantificación de proteínas en la microalga *Arthrospira platensis*. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 83(4), 371-381.
- García-Uribe, L. P., Marqués-Lázaro, J. P., & Viola-Rhenals, M. (2015). Estrés oxidativo, daño al ADN y cáncer.
- Gil, D. B., Bocourt, E. C., & Maqueira, Y. D. (2006). Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3, 5 dinitrosalicílico. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 40(2), 45-50.
- Goldman, A. (2014). *Manual de enfermería oncológica*. Instituto Nacional del Cáncer. Argentina.
- Gordo, D. A. M. (2018). Los compuestos fenólicos, un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. *Revista de investigación agraria y ambiental*, 9(1), 81-104.
- Guillen, G. Hernández, E. (2016) Determinación de la toxicidad sub crónica del extracto hexanico de las hojas de *Calea urticifolia* (juanislama) en ratones NIH. Universidad de El Salvador.
- Gupta, M., Sharma, S., Gautam, A. K., & Bhadauria, R. (2011). *Momordica charantia* Linn. (Karela): Nature's silent healer. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 11(1), 32-37.
- Gupta, R. K., Patel, A. K., Shah, N., Choudhary, A. K., Jha, U. K., Yadav, U. C. & Pakuwal, U. (2014). Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(11), 4405-4409.
- Halliwell, B. (2007). Oxidative stress and cancer: ¿have we moved forward? *Biochemical Journal*, 401(1), 1-11.



- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*, 144(5), 646-674.
- Hanan A. M., Mondragón J., Vibrans H., Lezama P. T. (2009). Malezas de México Ficha *Momordica charantia*.
- Hernández, A., & Hermosilla, V. (2014). Efecto de la concentración de saponinas en la actividad hemolítica de extractos de ocho plantas de uso medicinal en Guatemala. Universidad de San Calos de Guatemala.
- Hernández, D. J., Reina, A. G., Castillo, N. P., Acevedo, J. I. S., Martínez, G. L. G., & Agudelo, R. J. (2020). Evaluación del efecto acaricida de *Momordica charantia*, *Megaskepassa erythrochlamys* y *Gliricidia sepium* sobre *Rhipicephalus microplus*. *Revista MVZ Córdoba*, 1951-1951.
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293.
- Immaculate, C. A. Nivethini, L., & Victoria, T. D. (2015). Phytochemical screening and bioactivity of *Momordica charantina* L. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(3), 970-975.
- Irawan, D., Wijaya, C. H., Limin, S. H., Hashidoko, Y., Osaki, M., & Kulu, I. P. (2006). Ethnobotanical study and nutrient potency of local traditional vegetables in Central Kalimantan. *Tropics*, 15(4), 441-448.
- Isaza, J. H. (2007). Taninos o polifenoles vegetales. *Scientia et technica*, 1(33), 13-18.
- Jiménez, G. S., Ducoing, H. P., & Sosa, M. R. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista mexicana de fitopatología*, 21(3), 355-363.
- Jimeno García, E. (2016). Bases moleculares de la angiogénesis tumoral: papel del vegf. Universidad complutense.
- Karou, S. D., Tchacondo, T., Djikpo Tchibozo, M. A., Abdoul-Rahaman, S., Anani, K., Koudouvo, K., ... & de Souza, C. (2011). Ethnobotanical study of medicinal plants used in the management of diabetes mellitus and hypertension in the Central Region of Togo. *Pharmaceutical biology*, 49(12), 1286-1297.
- Khan, M. A., Tania, M., Zhang, D. Z., & Chen, H. C. (2010). Antioxidant enzymes and cancer. *Chinese Journal of Cancer Research*, 22(2), 87-92.
- Krishnamurthy, P., & Wadhvani, A. (2012). Antioxidant enzymes and human health. *Antioxidant enzyme*, 1, 3-18.
- Kumar, D. S. Sharathnath, K. V., Yogeswaran, P., Harani, A., Sudhakar, K., Sudha, P., & Banji D., /2010). A medicinal potency of *Momordica charantia*.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, 25(4), 726-732.
- León R. T. (2012). Actividad antiparasitaria del extracto de saponinas de *Yucca baccata* DEL desierto sonorense empleando jerbos (*Meriones unguiculatus*) infectados con *Giardia lamblia*. Centro de investigación en alimentación y desarrollo.



- Lira S., R., L.J. Sosa-Guzmán, I.V. Cabral-Soto, O. Téllez V. (2018). Distribución potencial de las especies silvestres de la familia Cucurbitaceae de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Informe final SNIB-CONABIO, Proyecto No. JM003. Ciudad de México.
- Llamas, B. R. H., Morejón, A. F., Bolaños, C. P., Morales, S. T., Quiñones, Y. B., & Rodríguez, M. P. (2008). Fitosteroles. Parte 2: Fuentes de obtención, formas de uso y posición actual en el mercado. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 39(2), 97-104.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118.
- López, A., Fernando, C., Lazarova, Z., Bañuelos, R., & Sánchez, S. (2012). Antioxidantes, un paradigma en el tratamiento de enfermedades. *Revista ANACEM (Impresa)*, 6(1), 48-53.
- López-Legarda, X., Taramuel-Gallardo, A., Arboleda-Echavarría, C., Segura-Sánchez, F., & Restrepo-Betancur, L. F. (2017). Comparación de métodos que utilizan ácido sulfúrico para la determinación de azúcares totales. *Revista Cubana de Química*, 29(2), 180-198.
- Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-biological interactions*, 224, 164-175.
- Mac Donald, D., Valencia, E. F., Cuyos, M., & Dueñas, R. (2005). Extracción, identificación y evaluación de saponinas en *Agaricus bisporus*. *Biotempo*, 5, 3-36.
- Macedo-Márquez, A. (2012). La producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) en las mitocondrias de *Saccharomyces cerevisiae*. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 15(2), 97-103.
- Mada, S. B., Garba, A., Mohammed, H. A., Muhammad, A., Olagunju, A., & Muhammad, A. B. (2013). Antimicrobial activity and phytochemical screening of aqueous and ethanol extracts of *Momordica charantia* L. leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(10), 579-586.
- Manjanatha, M. G., Shelton, S. D., Culp, S. J., Blankenship, L. R., & Casciano, D. A. (2000). DNA adduct formation and molecular analysis of in vivo lacI mutations in the mammary tissue of Big Blue® rats treated with 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene. *Carcinogenesis*, 21(2), 265-273.
- Manzoor, M., Durrani, M., Jabeen, R., Irfan, S., Ayub, F., & Bibi, S. (2012). An Ethno botanical Study for the Treatment of Cancer and Malaria Used by the People of Quetta City. *Int. J. Basic App. Chem. Sci*, 1(2), 137-149.
- Martínez Tlahuel J. L. (2007). Cáncer de mama. *Boletín de práctica médica efectiva*. 1-6.
- Martínez, M. V., García, L. Q., De los Rios Martínez, E., & Reyes, S. R. (2007). Características farmacognósticas de las hojas de *Capparis avicennifolia*. *REVISTA MÉDICA VALLEJIANA/Vallejian Medical Journal*, 4(2), 121-131.
- Martínez-Florez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Flavonoids: properties and anti-oxidizing action. *Nutricion hospitalaria*, 17(6), 271-278.



- Mishra, S. K., Suh, W. I., Farooq, W., Moon, M., Shrivastav, A., Park, M. S., & Yang, J. W. (2014). Rapid quantification of microalgal lipids in aqueous medium by a simple colorimetric method. *Bioresource technology*, 155, 330-333.
- Monedero, J. (2016). Identificación y caracterización de flavonoides por espectrometría de masas en melazas residuales de un ingenio azucarero (Doctoral disertación, Tesis de licenciatura). Cali: Universidad ICESI).
- Naivy, P. A., & Elio, J. (2011). Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo in vitro. *Biotecnología Vegetal*, 11, 195-211.
- Núñez Sellés, Alberto J. (2011). Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades. *Revista Cubana de Salud Pública*, 37(Supl. 5), 644-660.
- Oliva Anaya, C. A., Ronquillo, H. A. C., & García Sierra, J. C. (2015). Dieta, obesidad y sedentarismo como factores de riesgo del cáncer de mama. *Revista Cubana de Cirugía*, 54(3), 274-284.
- Oragwa, L. N., Efiom, O. O., & Okwute, S. K. (2013). Phytochemicals, anti-microbial and free radical scavenging activities of *Momordica charantia* Linn (Palisota Reichb) seeds. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 7(12), 405-409.
- Orantes, E. (2008). Tamizaje fitoquímico de la especie vegetal guatemalteca *Quararibea yunckeri* Standley Subsp. *izabalensis* W.S. Alverson ex Véliz (Bombacaceae). Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Oszmianski, J., Wojdylo, A., Lamer-Zarawska, E., & Swiader, K. (2007). Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. *Food Chemistry*, 100(2), 579-583.
- Pardo, M., & Gómez, E. (2003). Etnobotánica: aprovechamiento tradicional de plantas y patrimonio cultural. Jardín Botánico Madrid. *Anales*.
- Pedraza Chaverri, J., Cárdenas Rodríguez, N., & Chirino, Y. I. (2006). El óxido nítrico y las especies reactivas de nitrógeno. Aspectos básicos e importancia biológica. *Educación Química*, 17(4), 443-451.
- Pérez, R. M., Vargas, R., Martínez, F. J., García, E. V., & Hernández, B. (2003). Actividad antioxidante de los alcaloides de *Bocconia arborea*. Estudio sobre seis métodos de análisis. *Ars Pharm*, 2003; 44(1): 5-21
- Pérez, R., Cárdenas-Cárdenas, E., Mondragón-Terán, P., & Solís, A. A. E. V. (2018). Biología molecular del cáncer y las nuevas herramientas en oncología. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*, 22(4), 171-181.
- Porras, A. P., López, A. (2009). Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*. 3(1):121-134.
- Prarthna, D., Supe, U., & Roymon, M. G. (2014). A review on phytochemical analysis of *Momordica charantia*. *Int J Adv Pharm Biol Chem*, 3(1), 214-220.
- Puentes, L. N. D. (2009). Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos. Una revisión. *RET. Revista de estudios transdisciplinarios*, 1(2), 32-55.
- Puntel, R. L., Nogueira, C. W., & Rocha, J. B. (2005). Krebs cycle intermediates modulate thiobarbituric acid reactive species (TBARS) production in rat brain in vitro. *Neurochemical research*, 30(2), 225-235.
- Quílez Guerrero, A. M., García Giménez, M. D., & Sáenz Rodríguez, M. T. (2006).



Plantas utilizadas en procesos inflamatorios y cancerosos en el área del Caribe. Revista de Fitoterapia, 6 (Supl. 1), 59-63.

- Quintero García, C. M. (2016). Análisis funcional de genes que podrían codificar para quinona reductasas de dos electrones de *Saccharomyces cerevisiae*. Universidad de La Laguna.
- Quispe Toledano, E. (2019). Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia* L. "caigua amarga" en ratones, con intoxicación aguda hepática inducida por paracetamol.
- Ramal, N., (1994). Extracto fluido y extracto blando, NRAG 1129 Ministerio de Agricultura. La Habana, Cuba.
- Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?. Free radical biology and medicine, 49(11), 1603-1616.
- Roby MHH, Sarhan MA, Selim KAH, Khalel KI (2013). Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. Ind. Crops Prod. 43(1):827-831.
- Sánchez, N. C. (2013). Conociendo y comprendiendo la célula cancerosa: Fisiopatología del cáncer. Revista Médica Clínica Las Condes, 24(4), 553-562.
- Sánchez, S. (2013). Bioquímica experimental. Departamento de bioquímica. México.
- Sánchez-Valle, V., & Méndez-Sánchez, N. (2018). Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. Médica Sur, 20(3), 161-168.
- Semeniuk, L. V., Bela, A. J., Vonka, C. A., Romero, M. C., & Nuñez, M. B. (2018). Composición fitoquímica y nutricional de *Momordica charantia* y actividad antioxidante. Dominguezia, 39-44.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., & De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. International journal of pharmaceutical sciences review and research, 3(1), 91-100.
- Shah, R., Rosso, K., & Nathanson, S. D. (2014). Pathogenesis, prevention, diagnosis and treatment of breast cancer. World journal of clinical oncology, 5(3), 283.
- Shamsa, F., H. Monsef, R. Ghamooshi y M. Verdian-Rizi. 2008. Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. Thai Journal of Pharmaceutical Sciences 32: 17-20.
- Sies, H. (2016). The concept of oxidative stress after 30 years. In Biochemistry of Oxidative Stress (pp. 3-11). Springer, Cham.
- Sies, H., & Cadenas, E. (1985). Oxidative stress: damage to intact cells and organs. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences, 311(1152), 617-631.
- Sood A, Kaur P, Gupta R (2012). Phytochemical screening and antimicrobial assay of various seeds extract of Cucurbitaceae family. Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol. 3(3):401-409



- Soria, N., Ramos, P., Viveros, G., Estigarribia, G., Ríos, P., & Ortiz, A. (2020). Ethnobotany and use of medicinal plants family health units of Caaguazu, Paraguay. *Caldasia*, 42(2), 263-277.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Fisiología vegetal* (Vol. 10). Universitat Jaume I.
- Thirumalai, T., Beverly, C. D., Sathiyaraj, K., Senthilkumar, B., & David, E. (2012). Ethnobotanical Study of Anti-diabetic medicinal plants used by the local people in Javadhu hills Tamilnadu, India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2), S910-S913.
- Venereo Gutiérrez, J. R. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de medicina militar*, 31(2), 126-133.
- Verde-Star, M. J., García González, S., & Rivas Morales, C. (2016). Metodología científica para el estudio de plantas medicinales. *Omnia Science Monographs*.
- Vertuani, S., Angusti, A., & Manfredini, S. (2004). The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview. *Current pharmaceutical design*, 10(14), 1677-1694.
- Villacorta, J. R., Rivas, R. M., Núñez, M. J., Sánchez-Pérez, J. P., & Martínez, M. L. (2018). Cuantificación de sesquiterpenlactonas procedentes de las hojas de *Calea urticifolia* (Asteraceae) durante el año 2012. *Revista Minerva*, 1(1), 41-50.
- Villarreal-Ibarra, E. C., Espinoza, L. D. C. L., López, P. A., García-López, E., LÓPEZ, D. J. P., Ortiz-García, C. F., & Cárdenas, M. A. O. (2015). Evaluación etnofarmacológica de plantas con propiedades hipoglucémicas usadas en la medicina tradicional del sureste de México. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 14(2), 99-112.
- Wang, S., Zhang, Y., Liu, H., He, Y., Yan, J., Wu, Z., & Ding, Y. (2012). Molecular cloning and functional analysis of a recombinant ribosome-inactivating protein (alpha-momorcharin) from *Momordica charantia*. *Applied microbiology and biotechnology*, 96(4), 939-950.
- Weinberg, R. A., & Hanahan, D. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1), 57-70.
- Zermeño Macías, M. (2013). Caracterización química de extractos orgánicos de *Calea urticifolia* (Mill.) DC. Y bioensayo dirigido para determinar su actividad antiinflamatoria in vitro. Repositorio nacional conacyt.
- Zhang, F., Lin, L., & Xie, J. (2016). A mini-review of chemical and biological properties of polysaccharides from *Momordica charantia*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 246-253.

