



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**FITOQUÍMICA Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD
ANTIINFLAMATORIA Y CITOTÓXICA DE EXTRACTOS
ORGÁNICOS Y COMPUESTOS AISLADOS DE HOJAS DE
Oncidium sphacelatum Lindl. (Orchidaceae).**

T E S I S:

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

PRESENTA:

GABRIELA HERNÁNDEZ GALICIA

Director de Tesis: Dr. Mariano Martínez Vázquez

Asesor Interno: Dra. Hortensia Rosas Acevedo

MÉXICO, D. F.

Mayo 2010



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

“ZARAGOZA”

DIRECCIÓN

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

Comunico a usted que la alumna **HERNÁNDEZ GALICIA GABRIELA**, con número de cuenta **302090105** de la carrera de Biología se le ha fijado el día **11** del mes de **MAYO** de 2010 a las **14:00 hrs.** para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

PRESIDENTE DRA. F. LEONORA SÁNCHEZ GARCÍA F.

VOCAL DR. MARIANO MARTÍNEZ VÁZQUEZ*

SECRETARIO DRA. HORTENSIA ROSAS ACEVEDO

Hortensia Rosas A.

SUPLENTE Q. MARTHA T. JULIETA OLIVEROS GARCÍA

M. Oliveros

SUPLENTE M. en C. B. SUSANA LUNA ROSALES

El título de la tesis que presenta es: **Fitoquímica y evaluación de la actividad antiinflamatoria y citotóxica de extractos orgánicos y compuestos aislados de hojas de *Oncidium sphacelatum* Lindl. (Orchidaceae).**

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

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
México, D. F., a 14 de abril de 2010.

Alfredo Sánchez Figueroa
C.D. ALFREDO SALVADOR SÁNCHEZ FIGUEROA
DIRECTOR ZARAGOZA
DIRECCION

VO. BO.
BIÓL. GENARO MONTAÑO ARIAS
JEFE DE CARRERA

RECIBÍ
OFICINA DE EXÁMENES
PROFESIONALES Y DE GRADO

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

A los miembros del jurado:

Dr. Mariano Martínez Vázquez

Dra. Hortensia Rosas Acevedo

M en C. Bárbara Susana Luna Rosales

Dra. F. Leonora Sánchez García Figueroa

Q. Martha T. Julieta Oliveros García

Al Jardín Botánico del Bosque de Chapultepec

Ing. Rosa María Gómez Sosa

Biól. Martín Aguilar Cervantes

Al Instituto de Química y a su personal técnico-académico

M. en C. Teresa Ramírez Apan

M. en C. Antonio Nieto Camacho

Por el apoyo y facilidades brindadas para la realización de este trabajo

Dedicatoria

A mi padre Humberto Hernández Suárez
(In memoriam)

A mi madre Rita Galicia Modrow

A mis hermanos Aldo y Samuel

A mis sobrinos Javier, Guillermo y Jimena

Con cariño los amo

A mis amigos

A todas aquellas personas que han estado en algún momento de mi vida cerca de mí, y me han apoyado

GRACIAS

ÍNDICE

Abreviaturas	11
I. Resumen	13
II. Introducción	15
III. Antecedentes	16
3.1 Medicina tradicional	16
3.2 Principios activos de las plantas medicinales	16
3.3 Metabolismo primario y secundario	17
3.4 Flavonoides	19
3.4.1 Potencial antiinflamatorio de los flavonoides	21
3.5 Orchidaceae	22
3.6 Etnobotánica	23
3.7 Farmacología	25
3.8 Antecedentes químicos y farmacológicos del género <i>Oncidium</i>	28
3.9 <i>Oncidium sphacelatum</i>	29
3.9.1 Ubicación taxonómica de <i>Oncidium sphacelatum</i>	29
3.9.2 Descripción botánica	30
3.9.3 Nombres comunes	31
3.9.4 Estado de conservación	31
3.9.5 Hábitat	32
3.9.6 Distribución geográfica	33
3.10 Cáncer	33
3.10.1 Tipos de cáncer	34
3.10.2 El cáncer en México	35
3.10.3 Tratamiento del cáncer	38
3.10.3.1 Quimioterapia	38
3.11 Principios activos de origen natural	39
3.12 Inflamación	43
3.12.1 Tipos de inflamación	44
3.13 Relación cáncer-inflamación	44
IV. Justificación	45
V. Hipótesis	46

VI. Objetivos	47
6.1 Objetivo general	47
6.2 Objetivos particulares	47
VII. Material y método	48
7.1 Material biológico	48
7.2 Estudio fitoquímico	49
7.2.1 Partición de los extractos metanólico e hidroalcohólico	50
7.3 Análisis cromatográfico	51
7.4 Reacción de acetilación	52
7.5 Reacción de hidrólisis	52
7.6 Identificación de compuestos	53
7.7 Evaluación de la actividad antiinflamatoria	53
7.8 Evaluación de la actividad citotóxica	55
VIII. Resultados y discusión	57
8.1 Rendimiento de los extractos	57
8.2 Separación e identificación de compuestos	57
8.2.1 Extracto de acetato de etilo	58
8.2.2 Extracto metanólico	60
8.2.2.1 Fracción de acetato de etilo del extracto metanólico (FAM)	60
8.2.2.2 Fracción de metanol del extracto metanólico (FMM)	61
8.2.2.3 Fracción insoluble del extracto metanólico (FIM)	62
8.2.2.3.1 Reacción de acetilación	62
8.2.2.3.2 Reacción de hidrólisis	64
8.2.3 Extracto hidroalcohólico	65
8.2.3.1 Fracción de acetato de etilo del extracto hidroalcohólico (FAH)	65
8.3 Rendimiento de los compuestos puros	66
8.4 Pruebas biológicas	67
8.4.1 Actividad antiinflamatoria de los extractos	67
8.4.2 Actividad antiinflamatoria de los compuestos puros	68
8.4.3 Actividad citotóxica de los extractos	69
8.4.4 Actividad citotóxica de los compuestos puros	70

IX. Conclusiones	72
X. Literatura citada	73
XI. Anexo	80
11.1 Propiedades físicas y espectroscópicas de los compuestos puros	80
11.2 Espectros	83
11.3 Cartas	99

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructuras de los flavonoides	20
Figura 2. Metabolitos secundarios aislados de <i>Dendrobium nobile</i>	25
Figura 3. Metabolitos secundarios aislados de <i>Dendrobium chrysotoxum</i>	26
Figura 4. Metabolitos secundarios aislados de <i>Maxillaria densa</i>	26
Figura 5. Metabolitos secundarios aislados de <i>Scaphyglottis lívida</i>	27
Figura 6. Metabolitos secundarios aislados de <i>Oncidium cebolleta</i>	29
Figura 7. <i>Oncidium sphacelatum</i> Lindl.	29
Figura 8. <i>Oncidium sphacelatum</i> Lindl.	32
Figura 9. Distribución geográfica de <i>Oncidium sphacelatum</i> en México	33
Figura 10. Ilustración de células normales y anormales	34
Figura 11. Porcentaje de defunciones por tumores malignos por sexo según año de ocurrencia, 1998-2007.	35
Figura 12. Distribución porcentual de las defunciones por tumores malignos para cada sexo	36
Figura 13. Distribución porcentual de población por tipo de tumor maligno según sexo y grandes grupos de edad	37
Figura 14. Flor de <i>Catharantus roseus</i> y sus metabolitos secundarios aislados	40
Figura 15. <i>Taxus brevifolia</i> y sus metabolitos secundarios aislados	41
Figura 16. Flor de <i>Podophyllum peltatum</i> y sus metabolitos secundarios aislados	42
Figura 17. Compuestos de origen natural y algunos derivados con importancia clínica en el tratamiento del cáncer	43
Figura 18. Ejemplar de <i>Oncidium sphacelatum</i> registrado en el herbarios MEXU con el número 175258	48
Figura 19. Ejemplar de <i>Oncidium sphacelatum</i> registrado en el herbarios MEXU con el número 175265	48
Figura 20. Hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i> secas y molidas sometidas a maceración	49
Figura 21. Modelo de 13-acetato de 12- <i>O</i> -tetradecailforbol (TPA) en oreja de ratón	54
Figura 22. Estructura química de 5,6-diacetato-4'-metoxi-7- <i>O</i> -acetilrutinosidoflavanona, aislada del extracto de acetato de etilo de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	60
Figura 23. Estructura química de la flavona pectolinarigenina, aislada del extracto FAM de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	61

Figura 24. Estructura química de la sacarosa aislada del extracto FMM de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	62
Figura 25. Estructura química del acetato de pectolarina, aislado del extracto FIM de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	63
Figura 26. Estructura química del β -sitosterol aislado del extracto FAH de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	66

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Rendimiento de los extractos orgánicos de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	57
Cuadro 2. Fracciones obtenidas de la cromatografía del extracto de acetato de etilo de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	58
Cuadro 3. Fracciones obtenidas de la cromatografía de R111 proveniente del extracto de acetato de etilo de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	58
Cuadro 4. Fracciones obtenidas de la cromatografía de la mezcla de reacción de acetilación (MRA) del producto A proveniente del extracto de acetato de etilo de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	59
Cuadro 5. Fracciones obtenidas de la cromatografía del extracto FAM de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	60
Cuadro 6. Fracciones obtenidas de la cromatografía del extracto FMM de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	61
Cuadro 7. Fracciones obtenidas de la cromatografía del producto acetilado del extracto FIM de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	63
Cuadro 8. Fracciones obtenidas de la cromatografía del producto de hidrólisis del extracto FIM de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	64
Cuadro 9. Fracciones obtenidas de la cromatografía del extracto FAH de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	65
Cuadro 10. Rendimiento de los compuestos puros de los extractos orgánicos de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	67
Cuadro 11. Actividad antiinflamatoria de los extractos de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	68
Cuadro 12. Actividad antiinflamatoria de los compuestos puros aislados de los extractos orgánicos de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	68
Cuadro 13. Actividad citotóxica de extractos orgánicos de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	69
Cuadro 14. Actividad citotóxica de compuestos puros aislados de extractos orgánicos de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	70
Diagrama de flujo 1. Partición del extracto metanólico de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	50
Diagrama de flujo 2. Partición del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Oncidium sphacelatum</i>	51

ABREVIATURAS

A-549	Línea celular de adenocarcinoma de pulmón
Ach	Acetilcolina
AcOEt	Acetato de etilo
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AINEs	Antiinflamatorios no esteroideos
AMPc	Adenosin monofosfato cíclico
ARN	Ácido ribonucleico
BEL-7402	Línea celular de hematoma humano
CC	Cromatografía en columna
CCF	Cromatografía en capa fina
Ce ₂ SO ₄	Sulfato cérico
CI ₅₀	Concentración inhibitoria media
COX	Ciclooxigenasa
DMSO	Dimetilsulfóxido
DO	Densidad óptica
EDTA	Etilen-diamin-tetra acético
EM	Espectrometría de masas
EtOH	Etanol
FAH	Fracción de acetato de etilo del extracto hidroalcohólico
FAM	Fracción de acetato de etilo del extracto metanólico
FHM	Fracción de hexano del extracto metanólico
FIH	Fracción insoluble del extracto hidroalcohólico
FIM	Fracción insoluble del extracto metanólico
FMH	Fracción de metanol del extracto hidroalcohólico
FMM	Fracción de metanol del extracto metanólico
GalL	D-galactosamida
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
HCl	Ácido clorhídrico
HCT-15	Línea celular de cáncer de colon
HL-60	Línea celular de leucemia humana
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
INC	Instituto Nacional del Cáncer

INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
IR	Espectrometría de infrarrojo
K562	Línea celular de leucemia mieloblastica crónica
KBr	Bromuro de potasio
L-NAME	Nitro-L-Arginina Ester
LPMN	Leucocitos polimorfonucleados
MCF-7	Línea celular de cáncer de mama
MeOH	Metanol
MS	Metabolito secundario
OMS	Organización Mundial de la Salud
p.f.	Punto de fusión
PBS	Pentobarbital sódico
PC-3	Línea celular de cáncer de próstata
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s.a.	Sin actividad
SFB	Suero fetal bovino
SGC-7901	Línea celular de carcinoma de estómago
SKLU-1	Línea celular de adenocarcinoma de pulmón
SNC	Sistema Nervioso Central
SRB	Sulforodamina B
TCA	Ácido tricloroacético
TMS	Tetrametilsilano
TNF	Factor de necrosis tumoral
TPA	13-acetato de 12- <i>O</i> -tetradecailforbol
U251	Línea celular de cáncer de glía de SNC
UV	Ultravioleta
R111	Fracciones 111-120 del extracto de AcOEt
MRA	Mezcla de reacción de acetilación

RESUMEN

Desde tiempos inmemoriales, la humanidad ha utilizado las especies vegetales para satisfacer sus necesidades básicas, como alimentación, cobijo y salud. Este continuo uso, hizo que por una solución pragmática identificara y seleccionara las especies vegetales que le fueran más útiles.

Oncidium sphacelatum es una orquídea comúnmente conocida como flor de mayo, la cual crece en zonas tropicales de la parte sur de México. Sus flores son utilizadas como ornamento.

Estudios previos han informado de la presencia en *O. sphacelatum* de pectolarina y escutelarina-6-metil-eter-7-rutinosido, sin embargo hasta el momento no se conocen estudios acerca de su actividad biológica.

Por lo anterior se decidió evaluar la actividad antiinflamatoria y de inhibición de crecimiento celular de líneas de cáncer humano de extractos y metabolitos secundarios obtenidos a partir de hojas de *O. sphacelatum*. La evaluación de la actividad antiinflamatoria se llevó a cabo por medio del método de inducción de edema por TPA en la oreja de ratón y la inhibición de crecimiento por medio de sulforodamina B (SRB). Los resultados indicaron que los extractos de acetato de etilo, metanólico, la fracción de acetato de etilo del extracto metanólico (FAM) y la fracción de acetato de etilo del extracto hidroalcohólico (FAH) poseen actividad citotóxica. Sin embargo, únicamente los extractos de hexano y acetato de etilo mostraron actividad antiinflamatoria significativa.

En este estudio se logró aislar, a partir de los extractos orgánicos la 5,6-diacetato-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona, pectolarigenina, acetato de pectolarina, β -sitosterol y sacarosa. Este constituye el primer informe de la presencia de pectolarigenina, sacarosa y β -sitosterol en *O. sphacelatum*. Mientras que la 5,6-diaceto-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona es un nuevo producto en la literatura.

De los compuestos evaluados en el modelo de TPA el que mostró mayor actividad fue la 5,6-diacetato-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona que inhibió el edema en un 47.89% a la dosis de 0.31 mg/oreja.

Por otro lado, los resultados obtenidos en el modelo de SRB de los compuestos mostraron que la 5,6-diacetato-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona inhibió el 56.1% de crecimiento celular en la línea MCF-7 (cáncer de mama); la pectolarigenina tuvo actividad en las líneas U251 (glía de sistema nervioso central), PC-3 (cáncer de próstata), HCT-15 (cáncer de colon), MCF-7 y SKLU-1 (adenocarcinoma de pulmón) con un 56.95, 55.38, 99.24, 72.92 y 87.61% respectivamente; mientras que el acetato de pectolarina inhibió el 74.9 y 56.64% del crecimiento celular en las líneas HCT-15, y MCF-7 respectivamente.

II. INTRODUCCIÓN

La gran diversidad de especies vegetales que tiene México ha propiciado su uso en diferentes formas. Así, desde tiempos prehispánicos, floreció una importante farmacopea sustentada en plantas medicinales. Estos conocimientos se desarrollaron empíricamente a base de acierto y error y fueron transmitidos en forma oral de generación a generación. Durante la conquista estos conocimientos casi se perdieron, sin embargo, de manera providencial algunos fueron plasmados en varios códices. También, en varios lugares, este legado cultural sobrevivió, hoy en día solamente curanderos, chamanes, yerberos y sus discípulos son los poseedores de estos conocimientos (Domínguez, 1973).

Actualmente, se estima que aproximadamente el 80% de la población mundial depende, del uso de las llamadas plantas medicinales. Siendo la primera y en ocasiones la única opción de procuración de la salud de la población más pobre, particularmente en los países menos industrializados y que coincidentemente poseen una importante riqueza florística (Lara y Márquez, 1996).

Hoy en día, México cuenta con alrededor de 4 000 especies de plantas con flores que poseen algún atributo medicinal, (aproximadamente el 15% de la flora total del país), es decir, que más o menos una de cada siete especies posee alguna propiedad curativa (Ocegueda *et al.*, 2005).

En México, al igual que en otros países, el uso de las plantas medicinales constituye una práctica ancestral y a menudo también, es parte de un sistema más amplio de creencias y es considerada como parte integral de la vida diaria y del bienestar. La carencia de servicios tales como hospitales, atención médica, así como el incremento en costo de las medicinas, son los factores principales que han contribuido a que la población continúe con el uso de las plantas medicinales (Hersch-Martínez, 1995).

Por otro lado, se sabe que el cáncer en el ámbito mundial es la principal causa de mortalidad, se le atribuyen 7.9 millones de defunciones ocurridas en 2007 (OMS, 2009). En México se informó que, en este mismo año, los tumores malignos fueron la tercera causa de muerte, con 68 815 defunciones (INEGI, 2007). Por esta razón es importante la búsqueda de

nuevos compuestos biológicamente activos que en un futuro permitan el desarrollo de nuevos fármacos para el tratamiento de dicho padecimiento.

III. ANTECEDENTES

3.1 Medicina tradicional

La medicina tradicional es la suma total de conocimientos, técnicas y prácticas fundamentadas en las teorías, creencias y experiencias propias de las diferentes culturas y que se utilizan en el mantenimiento de la salud, así como en la prevención, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades físicas o mentales (OMS, 2009).

La medicina herbolaria se sirve de hierbas o materiales herbarios, preparaciones y productos herbarios acabados cuyos ingredientes activos son partes de plantas u otras materias vegetales. Cabe mencionar que los tratamientos herbarios, que son la forma más popular de medicina tradicional, resultan muy lucrativos en el mercado internacional. En 2003-2004 generaron ingresos anuales de \$ 5 000 millones de dólares. Sólo en China la venta de esos productos reportó \$ 14 000 millones de dólares en 2005. En Brasil, los ingresos generados por la medicina herbolaria ascendieron a \$ 160 000 millones de dólares en 2007 (OMS, 2009).

3.2 Principios activos de las plantas medicinales

Las plantas contienen elementos activos que las protegen de insectos, mohos y otros parásitos, así como de los rayos ultravioleta del sol. Muchos de estos componentes (ya sea de forma individual o en diferentes combinaciones) poseen efectos estimulantes, calmantes o terapéuticos en el hombre (Carballo *et al.*, 2005).

De acuerdo a la OMS, una planta medicinal se define como cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos o cuyos principios activos pueden servir de precursores para la síntesis de nuevos fármacos. Estas plantas también tienen importantes aplicaciones en la medicina moderna. Entre otras, son fuente directa de agentes terapéuticos, se emplean como materia prima en la fabricación de medicamentos sintéticos más complejos, la estructura química de sus principios activos pueden servir de modelo para la elaboración de drogas sintéticas y tales principios se pueden utilizar como marcadores taxonómicos en la búsqueda de nuevos medicamentos (Bermúdez *et al.*, 2005).

De las plantas se extraen productos químicos y muchos de ellos tienen valor terapéutico y comercial como los fármacos, dichos productos forman parte de lo que se conoce como metabolitos secundarios y son derivados de compuestos del metabolismo primario de las plantas. Usualmente se presentan en pequeñas cantidades y juegan un papel específico como mediadores químicos en procesos ecológicos (Peña, 1990).

Los principios activos de las plantas son de diversa estructura química, así se encuentran alcaloides, terpenoides, flavonoides, cumarinas, entre otras que pueden estar en forma libre o unidos a moléculas de diferentes azúcares, a estos últimos compuestos genéricamente se les conoce como glicósidos (Balandrin *et al.*, 1995).

La fitoquímica probablemente ha estudiado entre un 5 y un 15% de la diversidad vegetal existente en el mundo con relación a su composición química y su actividad biológica (Peña, 1990). Cada año se reportan en la literatura aproximadamente 1 500 nuevos productos naturales provenientes de plantas, los cuales constituyen hasta un 25% del total de los que se utilizan en la industria farmacéutica (Mantell *et al.*, 1985).

Sin embargo, los estudios de la flora medicinal mexicana son escasos, de ahí la importancia de realizar estudios sobre el mayor número de familias, géneros y especies para así ampliar el conocimiento sobre la flora medicinal existente en nuestro país.

3.3 Metabolismo primario y secundario

El aislamiento de diversos compuestos sintetizados por las plantas se inició a partir de las especies medicinales. La diferenciación de las plantas en órganos especializados y tejidos está íntimamente asociados con el rasgo de procesos biológicos especializados, que son fundamentales para sus roles biológicos y ecológicos. Estas funciones biológicas son reguladas por procesos bioquímicos, que se dividen en dos grupos: metabolitos primarios y metabolitos secundarios (Cotton, 1996).

El metabolismo primario comprende una serie de procesos, mediante los cuales, los organismos vivos sintetizan y degradan una serie de sustancias orgánicas que les son indispensables para vivir. Estos procesos son similares en casi todos los organismos vivos y a los productos sintetizados se les denomina metabolitos primarios. Los metabolitos primarios

se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. Ejemplo de ellos pueden ser los aminoácidos, carbohidratos, proteínas, etc. (Mata y Rivero, 2000).

El metabolismo secundario comprende igualmente una serie de procesos, mediante los cuales, los seres vivos sintetizan un gran número de compuestos orgánicos que aparentemente no les son indispensables para vivir. Estos compuestos se forman a partir de los metabolitos primarios y los procesos que conllevan a su formación pueden diferir en los distintos organismos. En las plantas, los metabolitos secundarios se pueden producir en respuesta a factores ambientales o a agentes patógenos, como mecanismos de defensa y supervivencia de la especie que los produce (Davies, 2003). Estos compuestos presentan una distribución taxonómica restringida, en ocasiones característica de un género o especie.

Los metabolitos secundarios (MS) se caracterizan por:

1. Gran heterogeneidad de su estructura química
2. Su distribución restringida
3. Su formación por medio de enzimas codificadas por material genético especial
4. El control estricto de su biosíntesis, por medio de la regulación de la cantidad y actividad de enzimas involucradas
5. La distribución celular restringida de enzimas, precursores, intermediarios y productos involucrados en su biosíntesis, almacenamiento y desintegración
6. La expresión del metabolismo secundario como un aspecto de especialización celular
7. La importancia relativa para la célula sintetizadora como tal, y la mayor importancia para el organismo como un todo
8. La falta de continuidad filogenética en varios de ellos (Anaya, 2003).

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

Entre los principales metabolitos secundarios se pueden citar:

- Compuestos alifáticos, carbocíclicos y heterocíclicos
- Compuestos que contienen nitrógeno, fósforo y azufre
- Compuestos saturados e insaturados
- Glicósidos

-
- Ácidos hidroxámicos
 - Azometinas que tiene grupos funcionales diversos: hidroxilo, epoxi, éster, éter, amino, nitró, carboxi (Anaya, 2003).

La mayoría de los principios activos que se obtienen de las plantas medicinales, proceden del metabolismo secundario (Kuklinski, 2003).

3.4 Flavonoides

Los flavonoides son metabolitos secundarios de tipo fenilpropano que generalmente se encuentran como *O*-glicósidos en sus fuentes naturales, aunque también se encuentran de forma natural como agliconas o como *C*-glicósidos. Poseen como unidad básica un esqueleto de 15 carbonos provenientes de malonil coenzima A y de *p*-cumaril coenzima A, donde están involucradas numerosas enzimas. La mayoría de los flavonoides se representan como moléculas de tipo C₆-C₃-C₆, con dos anillos aromáticos (A y B) y un heterociclo (C) con oxígeno (Fig 1-1) (Céspedes y Salazar en Romo de Vivar, 2006).

La nomenclatura de estos metabolitos tienen dos sistemas paralelos, el sistemático y el basado en los nombres triviales, este último es el más utilizado en la bibliografía de los flavonoides (Céspedes y Salazar en Romo de Vivar, 2006).

Los flavonoides se pueden clasificar dependiendo de la estructura de su esqueleto base, el cual consta básicamente de un anillo A, un heterociclo C y un anillo aromático B (Fig. 1-1). Así, cuando la estructura posee un carbonilo en la posición 4, el esqueleto se denomina flavanona (Fig. 1-2), cuando además se hidroxila la posición 3 se denomina dihidroflavonol (Fig. 1-3), cuando en este último se reduce el grupo carbonilo de la posición 4 se denomina flavan-3,4-diol (Fig. 1-4). La introducción de un doble enlace entre las posiciones 2 y 3 de las flavanonas y de los dihidroflavonoles conduce a los esqueletos que se denominan flavona (Fig. 1-5) y flavonol (Fig. 1-6), respectivamente. Por otro lado, el esqueleto de las antocianinas (Fig. 1-7) posee un sistema conjugado de dobles ligaduras que le confieren características coloridas típicas. Cuando el anillo C se une a través del carbono 3 o 4 del esqueleto general se forman los isómeros isoflavona (Fig. 1-8) y neoflavona (Fig. 1-9), respectivamente. Cuando el esqueleto de 15 átomos no forma un heterociclo se conoce como

chalcona (Fig. 1-10); cuando el heterociclo C formado es de 5 miembros se denomina aurona (Fig. 1-11) (Céspedes y Salazar en Romo de Vivar, 2006).

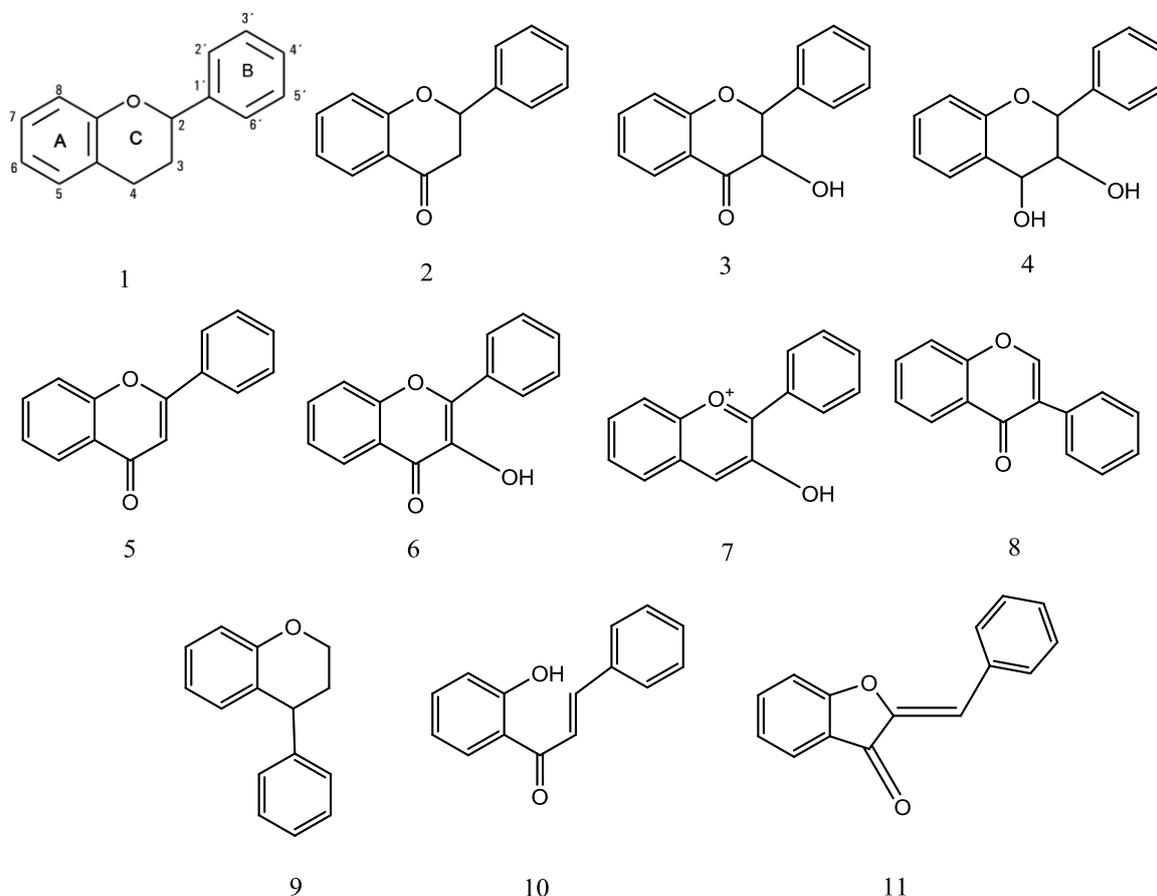


Figura 1. Estructuras químicas de los flavonoides. Modificado de Céspedes y Salazar en Romo de Vivar, 2006.

Los flavonoides se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas, encontrándose en muchas familias de inferiores, líquenes, musgos y en casi todas las familias de superiores. En otros organismos como los hongos, los flavonoides se han aislado escasamente, mientras que en las bacterias, hasta el día de hoy, no hay reportes de su existencia. En los animales sólo se tienen reportes del aislamiento de flavonoides de la glándula productora del olor característico del castor canadiense, y en las alas de una mariposa, pero su origen no es atribuible a biosíntesis animal, sino a los alimentos que consumen (Céspedes y Salazar en Romo de Vivar, 2006).

Las funciones fisiológicas que estos metabolitos secundarios tienen en los organismos que los producen no han sido establecidas claramente. Sin embargo, existe evidencia de las propiedades protectoras de estos compuestos en los tejidos vegetales contra la radiación UV, como fitoalexinas, como antibacterianos, además de la coloración y sabor característico de las

partes vegetales que los posee. En años recientes se ha observado la relación de los flavonoides con las propiedades defensivas de las plantas, encontrando por ejemplo, que la presencia de algunos *O*-glicósidos evitan el ataque de herbívoros en diferentes variedades de arroz, y en general, cada vez se encuentran en la literatura más reportes que informan de las propiedades alelopáticas de los flavonoides (Céspedes y Salazar en Romo de Vivar, 2006).

Hasta 1973 se conocían aproximadamente 900 flavonoides naturales, hoy en día el número sobrepasa los 6 400 flavonoides identificados, aislados de fuentes naturales; a algunos de ellos se les han determinado las actividades biológicas que poseen *in vitro* (Céspedes y Salazar en Romo de Vivar, 2006).

El avance en el estudio de estos metabolitos se debe a las nuevas técnicas desarrolladas para su aislamiento, la elucidación estructural e inclusive la síntesis. La rapidez con la que se pueden estudiar los flavonoides ha permitido a los investigadores realizar evaluaciones de su relación estructura-actividad encaminada a determinar el mayor número de actividades biológicas que poseen en muy diversos modelos (Céspedes y Salazar en Romo de Vivar, 2006).

3.4.1 Potencial antiinflamatorio de los flavonoides

En años recientes se han hecho diferentes estudios para determinar el potencial antiinflamatorio de los flavonoides y se ha observado que muchos pueden modular la síntesis de prostaglandinas, funcionando como inhibidores enzimáticos, y que también tienen propiedades antioxidantes. Existen aquellos que pueden inhibir la enzima ciclooxigenasa (COX), como por ejemplo la flavanona, la hesperetina, la flavona y la galangina, mientras que otros pueden inhibir la enzima lipoxigenasa, como la fisetina, la quercetina, la ramnetina y la miricetina (Michel *et al.*, 1985; Bauman *et al.*, 1982).

Otra enzima que puede inhibir los flavonoides es la fosfodiesterasa, la cual cataliza la descomposición del adenosin monofosfato cíclico (AMPc), y como los fármacos que elevan los niveles de AMPc tienen acción antiinflamatoria, los flavonoides que fomenten niveles de AMPc también actuarán de manera similar, como por ejemplo la amentoflavona (Middleton y Kandaswami, 1994).

Los flavonoides también pueden manifestar propiedades antiinflamatorias a través de su acción antioxidante, que les permite actuar contra el daño tisular debido a la formación de radicales libres generados como subproductos de las rutas ciclooxigenasa y lipoxigenasa. Su potencial antioxidante radica en su capacidad de captar radicales libres, como por ejemplo en la catequina, la rutina, la morina, la cianina y la delfinina (Hollman y Katan, 1998).

Es importante mencionar la gran ventaja de los flavonoides sobre los antiinflamatorios clásicos ya que carecen de los efectos secundarios tóxicos asociados con el uso de fármacos sintéticos; es decir, no causan ulceración gástrica como los antiinflamatorios no esteroideos (AINE's) (Pathak *et al.*, 1991).

3.5 Orchidaceae

La familia Orchidaceae es probablemente una de las más numerosas del reino vegetal ya que incluye alrededor de 35 000 especies agrupadas en 800 géneros, 5 subfamilias y 9 tribus. (Dressler, 1981).

Las orquídeas se pueden clasificar en terrestres, epífitas (73%), litofíticas, semiacuáticas o saprófitas, dependiendo del lugar donde se desarrollan. Las epífitas son plantas que, sin raíces en el suelo, crecen sobre plantas hospederas, por lo general árboles, pero sin tener un contacto directo con los haces vasculares de las mismas. En consecuencia, las epífitas falsamente llamadas parásitas, no extraen agua ni nutrientes de sus hospederos. Las principales ventajas de esta forma de vida es evitar la sombra del sotobosque y de los bosques húmedos y densos, además de evadir la competencia con las raíces de los árboles, arbustos y hierbas que crecen en el mismo hábitat (Dressler, 1993).

Aunque la familia Orchidaceae se distribuye a lo largo de todo el mundo, la mayor parte de las especies de orquídeas se encuentra en las regiones tropicales (Hietz y Hietz-Seifert, 1994) o subtropicales del mundo, por lo que la mayor concentración de orquídeas se encuentra en las montañas, a 20 grados del ecuador, en alturas de 1 000 a 2000 metros sobre el nivel del mar (Hausen, 1984). La concentración de estas especies en los trópicos americanos varía con la altitud, encontrándose el mayor número de especies en México, Guatemala, Honduras, Colombia, Venezuela y Brasil (Dressler, 1981).

En México las orquídeas se distribuyen principalmente en cuatro estados: Veracruz, Oaxaca, Chiapas y Guerrero. Otros estados con una cifra considerable de especies son: el estado de México, Morelos, Michoacán y las regiones más bajas de Puebla y San Luis Potosí (Hietz y Hietz-Seifert, 1994).

3.6 Etnobotánica

En México los miembros de la familia Orchidaceae son llamadas orquídeas o lirios. En la época precolombina el uso principal fue para la preparación de mucílago o pegamento (Hagsater *et al.*, 2005). Debido a la belleza de sus flores varias especies de orquídeas son utilizadas como plantas de ornato, como por ejemplo las especies del género *Phalaenopsis*, procedentes de Asia y Australia (Hietz y Hietz-Seifert, 1994; Tatsuzawa *et al.*, 1997). Muchas otras especies tienen relevancia en las industrias cosmética y de alimentos por sus aceites esenciales que les confieren propiedades aromáticas, tal es el caso de la especie *Vanilla planifolia*. Asimismo, algunas culturas orientales utilizan los tubérculos de especies del género *Orchis* para la producción de harinas (salep) con propiedades reconstituyentes y analépticas (Stoessl y Arditti, 1984). En países como la India y Turquía, especies del mismo género se agregaban a los vinos como alimento por sus supuestas propiedades afrodisiacas (Zimmermann y Dougoud, 1959).

Entre las orquídeas utilizadas en la medicina tradicional para el tratamiento de la disentería están las especies del género *Isochilus* conocidas en México como sanguinarias. También las especies *Arpophyllum spicatum*, *Epidendrum anisatum*, *Epidendrum pastoris*, *Cranichis speciosa*, *Bletia campanulata* y *Bletia coccínea* son señaladas para el mismo mal. Con las especies *Catasetum integerrimum*, *Cyrtopodium macrobulbon*, *Bletia purpurea* y *Prosthechea citrina* se preparan cataplasmas para el tratamiento de algunas heridas. Algunas de las especies de *Malaxis* se utilizan para aliviar dolores de estómago. Las flores de *Calanthe calanthoides* se usan para detener el sangrado nasal, de la misma manera que la savia de *Rhyncholaelia digbyana* detiene las hemorragias en las heridas. De *Laelia autumnalis* se utilizan las flores en infusión para aliviar la tos (Nageswara, 2004; Hagsater *et al.*, 2005).

Las flores de la especie *Angraecum fragans* se emplean en la medicina tradicional por sus propiedades sedantes, diaforéticas y expectorantes (Zimmermann y Dougoud, 1959). Algunas especies del género *Cattleya* se utilizaban para el tratamiento de la hipotensión por su alto

contenido en tiramina. Las raíces de *Cypripedium reginae*, también conocida como valeriana americana, son utilizadas en América del Norte por sus propiedades tranquilizantes (Stoessl y Arditti, 1984). En el género *Dendrobium* encontramos varias especies con propiedades curativas, de estas destacan dos: *Dendrobium nobile* y *Dendrobium loddigense*. La primera especie se emplea en la China desde tiempos ancestrales como tónico y antipirético, así como, para el tratamiento de desórdenes gastrointestinales y anorexia (Onaka *et al.*, 1965; Miyazawa *et al.*, 1997). También forma parte de la droga china “Shih-hu” empleada para tratar la dismenorrea, el reumatismo, la impotencia y la leucorrea. El “Shih-hu” es apreciado como tónico y por la creencia de que imparte la longevidad a sus consumidores (Kong *et al.*, 2003).

Otra orquídea usada en la medicina tradicional China es *Bletia striata*, también conocida como “Daichi” o “Baiji”. Los pseudobulbos de esta planta se utilizan en el tratamiento de la tuberculosis, úlceras gástricas y duodenales, así como también para mejorar la piel agrietada en pies y manos (Kong *et al.*, 2003). En China, Mongolia y Japón se utiliza para la purificación de la sangre y fortalecimiento de los pulmones; también es de utilidad para el tratamiento de abscesos, tumores malignos, cáncer de mama, flatulencias, dispepsia, disentería, fiebre, úlceras malignas, desórdenes gastrointestinales, hemorroides, malaria, enfermedades de los ojos, algunas micosis, tos, dolor de pecho, sangrados internos, inflamación y como agente expectorante. Un preparado a base de las raíces de la planta mezcladas con aceite se aplica de manera tópica para aliviar quemaduras y enfermedades de la piel, así mismo, la planta entera es apreciada para curar leucorrea, tos purulenta y como tónico (Kong *et al.*, 2003).

Nervilia purpurea, conocida en Taiwán como “I-Tiam-Hong”, se utiliza para el tratamiento de heridas y la hipertensión. *N. aragoana*, en cambio, se emplea para curar enfermedades pulmonares y la hipertensión (Kikuchi *et al.*, 1985a y 1985b). Finalmente, los tubérculos de *Pleione bulbocoides* (“Shan ci-gu”) son efectivos para el tratamiento de tumores en China (Bai *et al.*, 1996 y 1997; Kong *et al.*, 2003).

3.7 Farmacología

En 2008, se publicaron los resultados del estudio de 49 especies de la familia Orchidaceae que han demostrado poseer actividad antitumoral, citotóxica, antiinflamatoria, relajante, antialérgica, antimicrobiana, fungicida y espasmolítica (Kovacs *et al.*, 2008).

Dendrobium loddigense ha sido objeto de varios estudios fitoquímicos y farmacológicos, algunos compuestos aislados de esta planta como la moscatilina, la moscatina y el diacetato de moscatilina inhiben la agregación plaquetaria inducida por el ácido araquidónico o el colágeno. Otros estudios farmacológicos comprobaron que los alcaloides shihunidia y shihunina, presentes también en la especie, son potentes inhibidores de la actividad de la enzima Na^+/K^+ -ATPasa aislada de riñón de rata (Kong *et al.*, 2003).

El extracto de *Dendrobium nobile* posee actividad antimutagénica y los principios responsables del efecto fueron caracterizados como los bencilos gigantol y moscatilina (Aloifol II) (Fig. 2) (Miyazawa *et al.*, 1997).

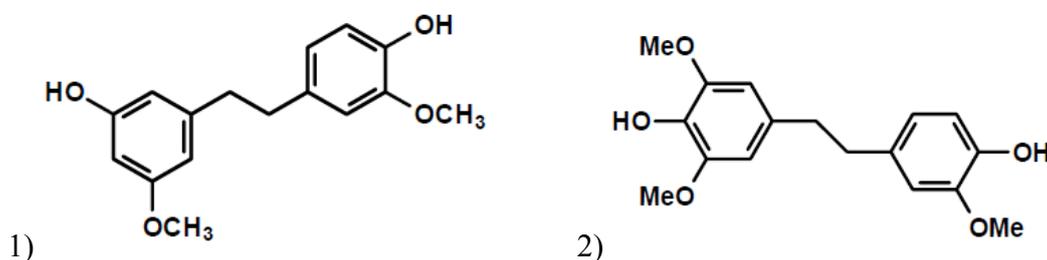


Figura 2. Metabolitos secundarios aislados de *Dendrobium nobile*. 1) Gigantol, 2) Moscatilina (Aloifol II). Tomado de (Miyazawa *et al.*, 1997).

Del extracto hidroalcohólico de *Dendrobium chysotoxum* se aislaron 1,4,5-trihidroxi-7-metoxi-9H-fluoren-9-ona, dendroflorina y dencrisana (Fig. 3). Los cuales fueron evaluados *in vitro* en líneas celulares K-562, HL-60 de leucemia humana, A-549 de adenocarcinoma de pulmón, BEL-7402 de hematoma humano y SGC-7901 de carcinoma de estómago, usando cisplatino como control positivo. Los tres compuestos mostraron una mayor actividad en BEL-7402 con los valores de CI_{50} de 1.49, 0.97 y 1.38 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectivamente (Chen *et al.*, 2008).

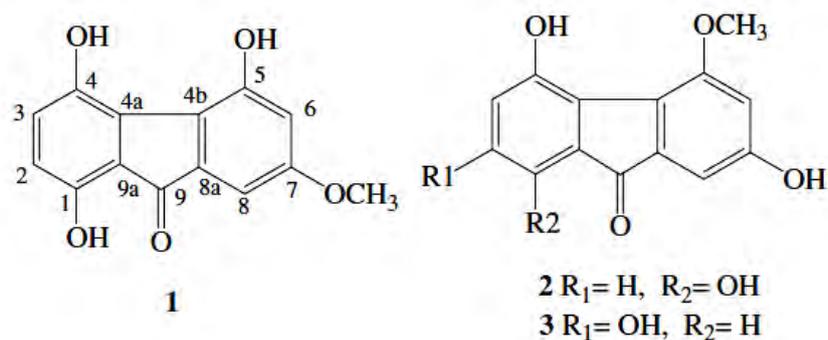


Figura 3. Metabolitos secundarios aislados de *Dendrobium chysotoxum*. 1) 4,5-trihidroxi-7-metoxi-9H-fluoren-9-ona, 2) dendroflorina y 3) dencrisana. Tomado de Chen *et al.*, 2008.

Los compuestos 2,5-dihidroxi-3,4-dimetoxifenantreno, fimbriol-A, nudol, gimnopusina y eriantridina, aislados de *Maxillaria densa* presentaron efecto relajante dependiente de la concentración, en el ileum de rata (Fig. 4). Estos compuestos inhibieron las contracciones espontáneas inducidas con histamina, cloruro de bario y L-NAME, con una potencialidad comparable a la de la papaverina (Estrada *et al.*, 2004).

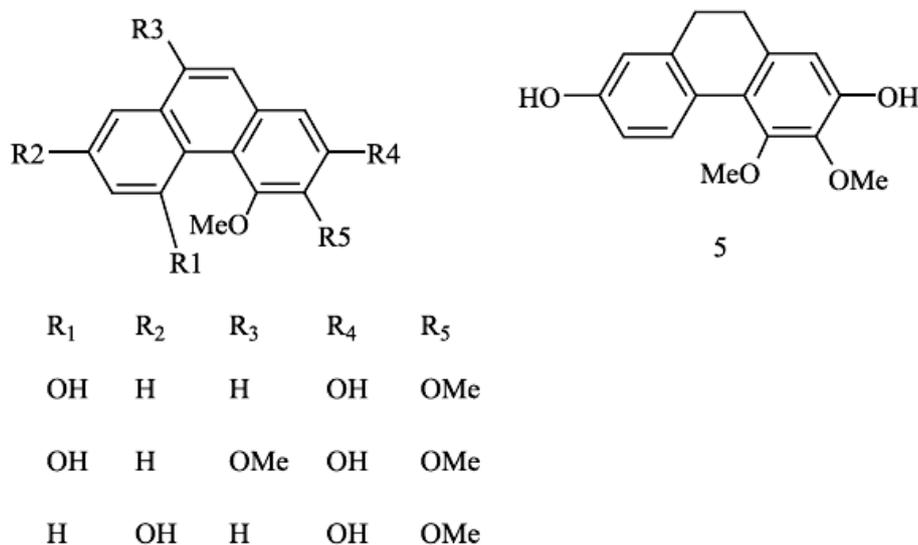


Figura 4. Metabolitos secundarios aislados de *Maxillaria densa*. 1) 2,5-dihidroxi-3,4-dimetoxifenantreno, 2) fimbriol-A, 3) nudol, 4) gimnopusina y 5) eriantridina. Tomado de Estrada *et al.*, 2004.

De *Scaphyglottis lívida* fueron aislados cinco compuestos aromáticos 3,4'-dihidroxi-5,5'-dimetoxibenzil, batatasin III, coelonina, 3,7-dihidroxi-2,4-dimetoxifenantreno y 3,7-dihidroxi-2,4,8-trimetoxifenantreno (Fig. 5). Todos los compuestos indujeron una inhibición,

dependiente de la concentración, en las contracciones espontáneas de ileum de rata, con valores comparables a la papaverina (Estrada *et al.*, 1999).

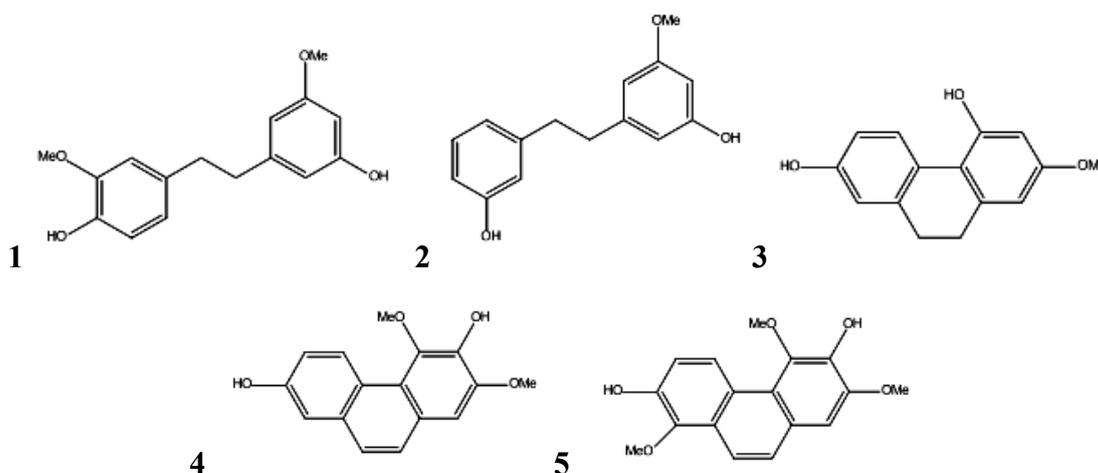


Figura 5. Metabolitos secundarios aislados de *Scaphyglottis lívida*. 1) 3,4'-dihidroxi-5,5'-dimetoxibenzil, 2) batatasin III, 3) coelonina, 4) 3,7-dihidroxi-2,4-dimetoxifenantreno y 5) 3,7-dihidroxi-2,4,8-trimetoxifenantreno. Tomado de Estrada *et al.*, 1999.

Gastrodia elata es una orquídea medicinal ampliamente utilizada en la región del Tibet, Corea, Japón y China como alimento. Además, el rizoma se utiliza en China para aliviar dolores de cabeza. Los tubérculos y el rizoma (cocidos o secos) se utilizan, con el nombre de “tienma”, para el tratamiento de la migraña, reumatismo, parálisis, convulsiones infantiles, fiebre, entre otras numerosas afecciones (Noda *et al.*, 1995; Kong *et al.*, 2003). En Corea, los tubérculos de la especie se utilizan para el tratamiento de desórdenes nerviosos, para prevenir el resfriado común y como tónico. En Taiwán, la planta se recomienda para fortalecer el sistema nervioso debilitado y aliviar los dolores de cabeza, en tanto que los japoneses la utilizan para el vértigo, dolor de cabeza y enfermedades nerviosas. Recientemente, varias pruebas farmacológicas han demostrado las propiedades sedantes y analgésicas del extracto crudo; por otro lado, el extracto ocasionó un incremento en el flujo sanguíneo del corazón y cerebro, disminuyendo así la resistencia de los vasos sanguíneos (Wu *et al.*, 1996; Noda *et al.*, 1995). Por último, Wu y colaboradores demostraron que el extracto acuoso posee actividad antioxidante y secuestradora de radicales libres, mientras que el extracto metanólico tiene poco efecto sobre los procesos de aprendizaje y memoria (Wu *et al.*, 1996).

El efecto antiespasmódico de los extractos de hexano, cloroformo, metanol y agua de la orquídea *Encyclia michuacana* fue estudiado *in vitro* sobre el ileum de conejillos de indias

comparado con tres espasmógenos: acetilcolina (Ach), histamina y cloruro de bario. El extracto de cloroformo ejerció un efecto antiespasmódico significativo sobre contracciones del ileum inducido por Ach, histamina y cloruro de bario ($IC_{50}=90.64, 73.12$ y $115.2 \mu\text{g/mL}$, respectivamente). Además, el extracto de cloroformo de *Encyclia michuacana* provocó una inhibición, dependiente de la dosis de las contracciones espontáneas del ileum de conejillo de indias con potenciales comparables a las de la papaverina (Pérez y Vargas, 2009).

La fracción de acetato de etilo del extracto acuoso de *Anoectochilus formosanus* indujo apoptosis en la línea celular MCF-7 de carcinoma de mama (Lie-Fen *et al.*, 2004).

Se ha informado que el extracto metanólico de *Laelia autumnalis* indujo relajación en los anillos aórticos precontraídos en un porcentaje de 85% con una CI_{50} de $54.11\pm 4.17 \mu\text{g/mL}$ y un valor máximo de 80% de inhibición dependiente de la concentración en anillos del endotelio del duodeno. También demostró tener efectos antihipertensivos en ratas espontáneamente hipertensas disminuyendo la presión arterial y el ritmo cardiaco significativamente (Vergara-Galicia *et al.*, 2008).

3.8 Antecedentes químicos y farmacológicos del género *Oncidium*

Estudios previos de *Oncidium pachyphyllum* ahora *Trichocentrum pachyphyllum* conocida en el estado de Morelos como oreja de burro, demostraron efectos vaso relajantes de los extractos diclorometánico y metanólico de la raíz, pseudobulbos y hojas. Para el extracto de diclorometano de raíz y pseudobulbo, se reporta un efecto vaso relajante de $83.41\pm 4.05\%$ y de $97.58\pm 1.37\%$ con una concentración de $50 \mu\text{g/mL}$, para el extracto metanólico de raíz de $78.61\pm 5.62\%$ y de $84.36\pm 1.25\%$ con la misma concentración (Alemán *et al.*, 2007).

Las hojas de la especie *Oncidium cebolleta* ahora *Trichocentrum cebolleta* son usadas por los indios Tarahumaras del norte de México como un reemplazo temporal del peyote o “hikuri” (*Lophophora williamsii*) durante sus ceremonias mágico-religiosas, de esta orquídea se aislaron 6 compuestos: 1).- 2,3-dihidroxi-4,7,8-trimetoxifenantreno, 2).- 2,7-dihidroxi-3,4,6-trimetoxifenantreno, 3).- 2,7-dihidroxi-3,4,6-trimetoxi-9,10-dihidrofenantreno, 4).- 2,7-diacetato-3,4-dimetoxifenantreno, 5).- 2,7-dihidroxi-3,4-dimetoxifenantreno y 6).- 2,7-dihidroxi-4,8-dimetoxifenantreno (Fig. 6) (Stermitz *et al.*, 1983).

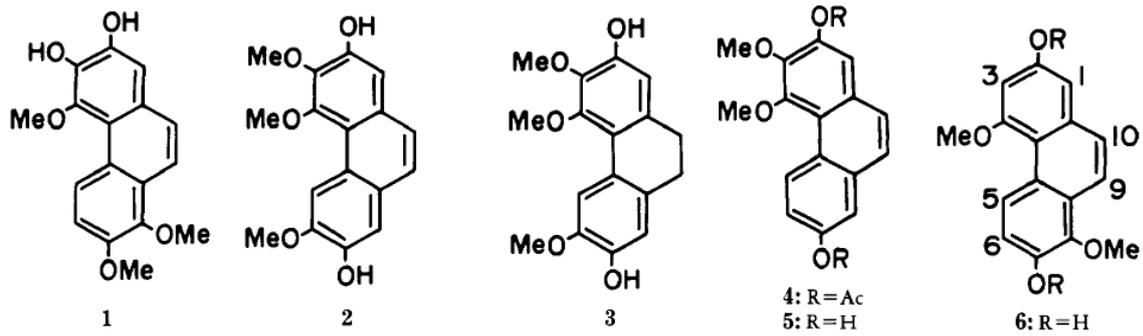


Figura 6. Metabolitos secundarios aislados de *Oncidium cebolleta*. Tomado de Stermitz *et al*, 2009.

De las hojas de *Oncidium excavatum* y de *Oncidium sphacelatum* se han aislado dos metabolitos secundarios, pectolarigenina-7-rutinosido (pectolarina) y escutelarina-6-metil-eter-7-rutinosido, mientras que pectolarigenina-7-glucosido sólo se aisló de *Oncidium excavatum* (Williams, 1979).

3.9 *Oncidium sphacelatum*

3.9.1 Ubicación taxonómica de *Oncidium sphacelatum*

Reino: Plantae

Filo: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Asparagales

Familia: Orchidaceae

Subfamilia: Epidendroideae

Tribu: Maxillarieae

Subtribu: Oncidiinae

Género: *Oncidium*

Especie: *O. sphacelatum*



Figura 7. *Oncidium sphacelatum* Lindl.
Tomada por Gabriela Hernández G.
2009.

Nombre binomial: *Oncidium sphacelatum* Lindl, 1841. (Fig. 7) (Chase y Palmer, 1992).

3.9.2 Descripción botánica de *Oncidium sphacelatum*

Hierba ocasionalmente litófito, de 50-60 cm de alto sin incluir la inflorescencia. **Raíces** delgadas, 0.8-2.0 mm de grosor. **Rizoma** largo, 4-5 cm de largo, cubierto por vainas papiráceas que con la edad se deshacen en fibras. **Pseudobulbos** separados por el rizoma, oblongo-ovoides, comprimidos, bi-trifoliados, sulcados longitudinalmente, mostrando 3 costillas, verde-claros a amarillo-verdosos, brillantes, 10-20 x 2.5-5.0 cm, cubiertos en la base por 4-6 vainas subcoriáceas, de 6-14 cm de largo, las dos o tres superiores foliosas, con lámina foliar articulada, semejante a las hojas, de 15-40 x 1.5-3.0 cm. **Hojas** 2-3 en el ápice del pseudobulbo, erecto-arqueadas, linear-elípticas, ensiformes, agudas, subcoriáceas, verde-claras, carinadas dorsalmente, 40-80 x 1.5-3.0 cm. **Inflorescencia** originada en la base del pseudobulbo maduro, una por pseudobulbo, paniculada, erecta-arqueada, de 60-150 cm de largo, densiflora, 30-100 ó más flores simultáneas, ramas de 3-15 cm de largo; pedúnculo de 20-50 cm de largo; provista de brácteas, triangulares, escarioso-papiráceas, amplexicaules, agudas, las del pedúnculo tubulares en la base, adpresas al tallo, 17-35 x 10-14 mm, las de la base de las ramas 10-30 x 5-10 mm. **Brácteas florales** cuculadas, triangulares, escarioso-papiráceas, amplexicaules, agudas, 4-8 x 4-5 mm. **Ovario** pedicelado, tenuemente sulcado, 20-32 mm de largo, 12-14 mm de grosor. **Flores** vistosas, con ligero agradable aroma diurno, 25-30 mm de diámetro; sépalos y pétalos amarillos con manchas irregulares pardo-rojizos que cubren las dos terceras partes de su longitud; labelo amarillo con dos manchas grandes de forma irregular, pardo rojizas en el disco, alrededor del callo y manchas del mismo color hacia los bordes. **Sépalos** extendidos, porción apical recurvada, con los lados deflexos, obtusos, con márgenes ondulados, 5-nervados; **sépalo dorsal** ligeramente reflexo, unguiculado, uña de 1.5-2.0 mm de largo; elíptico a oblanceolado, ligeramente conduplicado en el ápice, 8-15 x 4-7 mm; **sépalos laterales** falcados, cortamente connados en la base, unguiculados, uña de 2.5 mm de largo; angostamente elípticos, márgenes ondulados, carinados en el dorso, 11-17 x 2.5-5.0 mm. **Pétalos** ligeramente incurvados, con la porción apical recurvada, cortamente unguiculados, uña de 1 mm de largo; ovados a elípticos o lanceolados, agudos, en ocasiones obtusos, ligeramente carinados dorsalmente, 5-nervados, 10-15 x 6-7 mm. **Labelo** ampliamente panduriforme, trilobado, plano, formando un ángulo de 135° con respecto a la columna, diminutamente papiloso alrededor del callo, 12-18 mm de largo, 8-12 mm de ancho a la altura de los **lóbulos laterales**; éstos muy pequeños en relación con el lóbulo medio, semiorbiculares, redondeados, con los márgenes deflexos, 2-4 x 3-5 mm; **istmo** amplio, con los bordes extendidos, 7-9 mm de ancho; **lóbulo medio** subreniforme,

bilobulado, ápice retuso, con márgenes irregulares o crenado ondulados, 7-10 x 12-18 mm. **Callo** blanco con manchas o puntos pardo rojizos, extendiéndose menos de un cuarto de la longitud del labelo, pubescente, oblongo, formado principalmente por cinco quillas, dos cortas en la base y tres quillas en la parte distal, dos laterales que terminan en un diente agudo o romo, ambos divergentes entre sí y una central más corta que las anteriores, 3-4 mm de largo, 2.5-3.0 mm de ancho. **Columna** delgada, encorvada, dilatada hacia el ápice a la altura del estigma, 5-6 mm de largo, amarillo-verdosa, a veces con manchas pardo rojizo en el dorso, alada, con pocas manchas en el dorso; tábula infraestigmática suborbicular, con un sulco ligero, ensanchada en su parte media, papilosa en su mitad superior, amarilla; alas delgadas, descendentes, oblicuo-trianguulares, muy angostas en la parte superior, con margen irregular, algo crenado o eroso dentado, diminutamente celular papilosa, amarillas con manchas rojizas en el borde, 1.0-1.6 x 2-3 mm. **Antera** semiovoide, con el ápice agudo, unilocular, amarilla, papilosa hacia los bordes laterales, con una quilla gruesa en la parte exterior, amarilla, 2.5 mm de largo, 1.4 mm de ancho. **Polinario**: tipo XI de la clasificación de Chase (1987), 2 mm de largo, formado por dos **polinios** obovoides, sulcados, 0.9 mm de largo, 0.5-1.0 mm de ancho; **estípite** laminar, semitubular, terminando en un pico en la parte dorsal, donde parte una lámina lateralmente aplanada, en donde se sujetan los polinios, por medio de las caudículas cortas, 1.4 -1.5 mm de largo; **viscidio** ovoide, pardo. **Clinandrio** ovado, papiloso, amarillo-verdoso. **Rostelo** corto, triangular. **Cavidad estigmática** elíptica, cóncava, brillante, blanco-rojiza con venas rojas. **Cápsula** elipsoide, fusiforme, pedicelada, 4 cm de largo, 1 cm de grosor, pedicelo de 2 cm de largo (Fig. 8) (Jiménez, 2008).

3.9.3 Nombres comunes

Flor de mayo, mayitos y lluvia de oro (en Veracruz); Zuchsuchjaz (tzeltal, en Chiapas) (Jiménez, 2008).

3.9.4 Estado de conservación

No amenazada. Esta especie es muy común y distribuida ampliamente, vive en una amplia variedad de condiciones ambientales, tolera bien la perturbación del hábitat. La presión de colecta es baja, ya que existen en cultivo numerosas plantas a las que es fácil propagar por división de mata (Jiménez, 2008).

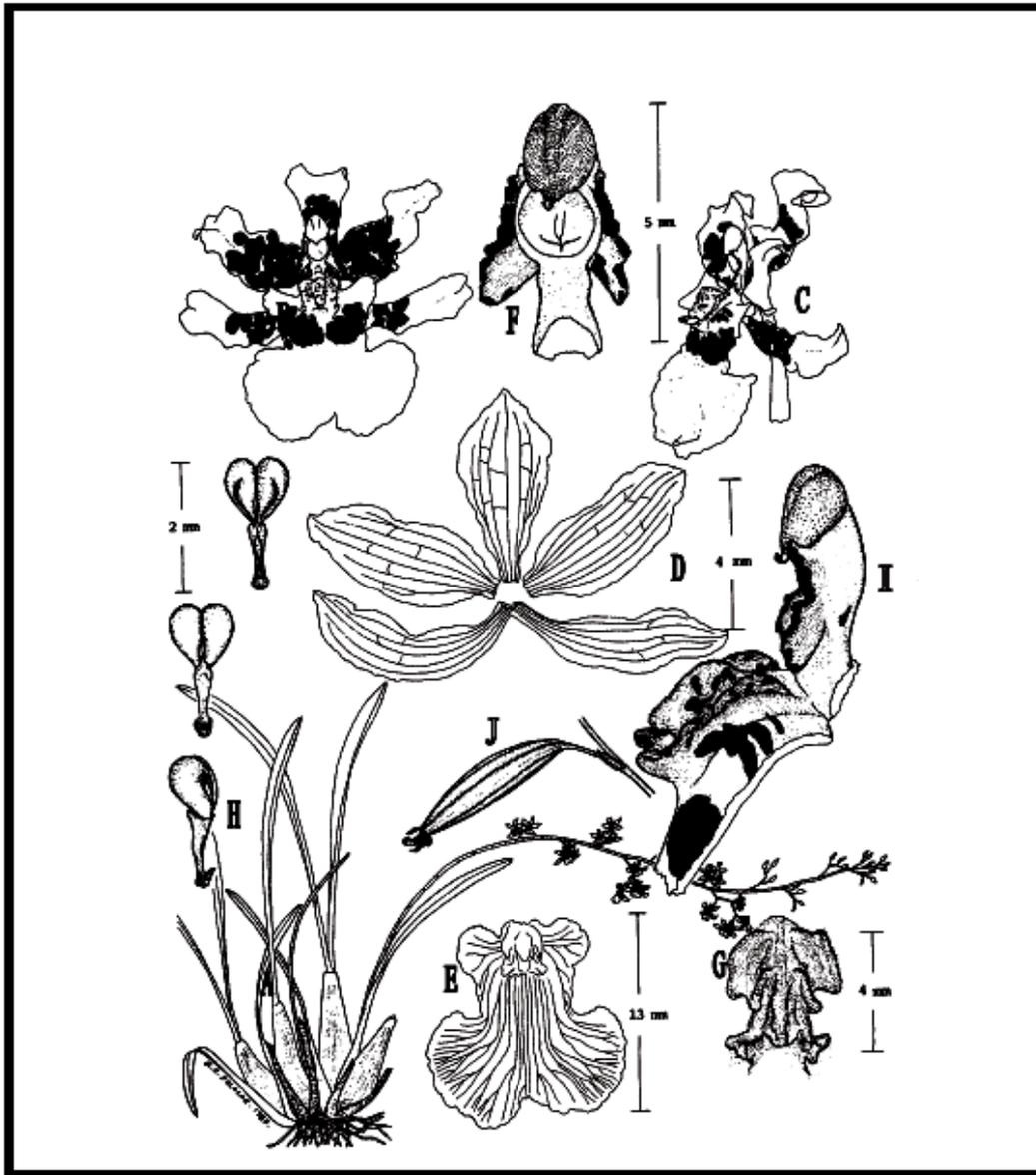


Figura 8. *Oncidium sphacelatum* Lindl. Dibujo por G. Salazar, basado en G. Salazar 3151. A. Planta. B. Flor vista de frente. C. Flor vista de perfil. D. Sépalos y pétalos. E. Labelo. F. Columna. G. Callo. H. Polinario. I. Columna y callo de perfil. J. Cápsula (Jiménez, 2008).

3.9.5 Hábitat

Epífita y ocasionalmente litófito; en bosque tropical perennifolio, bosque tropical subcaducifolio, bosque de *Quercus*, bosque espinoso de *Haematoxylon campechianum*, vegetación riparia y vegetación secundaria en plantaciones de café y naranjales, desde el nivel del mar hasta cerca de los 1000 m. Florece de febrero a junio, siendo mayo el mes de mayor floración (Jiménez, 2008).

3.9.6 Distribución geográfica

México, en la Planicie Costera del Golfo de México, partes bajas de la Sierra Madre Oriental, Depresión Central de Chiapas y Península de Yucatán; San Luis Potosí, Hidalgo, Querétaro, Veracruz, Oaxaca, Chiapas, Tabasco, Campeche y Quintana Roo (Fig. 9); Guatemala, Belice, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Venezuela y Cuba (Jiménez, 2008).



Figura 9. Distribución geográfica de *Oncidium sphacelatum* en México. Modificado de Jiménez, 2008.

3.10 Cáncer

El cáncer es el crecimiento anormal e incontrolado de células, localizado en alguna parte específica del cuerpo. Este tipo de degeneración puede darse en varias partes del organismo. El cáncer comienza en las células, que son las unidades básicas que forman los tejidos del cuerpo (IMSS, 2008).

El cuerpo está compuesto de muchos tipos de células. Estas células crecen y se dividen para producir nuevas células conforme el cuerpo las necesita. Cuando las células envejecen, mueren y éstas son reemplazadas por células nuevas. Pero a veces, este proceso ordenado de división de células se descontrola. Células nuevas se siguen formando cuando el cuerpo no las necesita. Cuando esto pasa, las células viejas no mueren cuando deben morir. Estas células que no son tejido es lo que se llama tumor. No todos los tumores pueden ser cancerosos. Los tumores pueden ser benignos o malignos (Fig. 10) (INC, 2007).

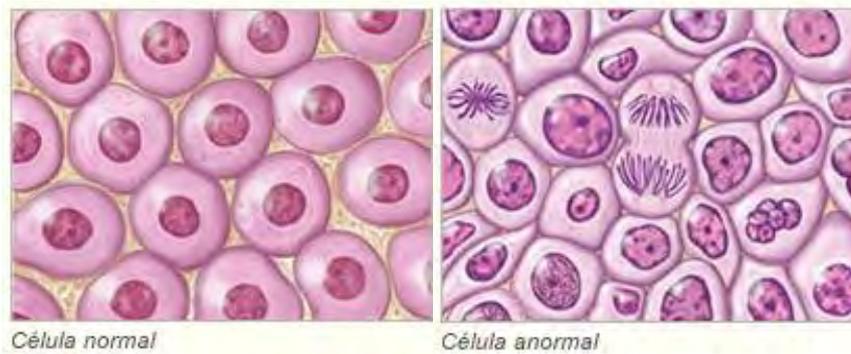


Figura 10. Ilustración de células normales y anormales (INC, 2007).

- Los tumores benignos no son cancerosos. Generalmente se pueden extraer (extirpar). En la mayoría de los casos, estos tumores no vuelven a crecer. Las células de los tumores benignos no se diseminan o riegan a otros tejidos o partes del cuerpo.
- Los tumores malignos son cancerosos. Las células en estos tumores pueden invadir el tejido a su alrededor y diseminarse (regarse) a otros órganos del cuerpo. Cuando el cáncer se disemina o riega de un parte del cuerpo a otra, se llama metástasis (INC, 2007).

El nombre de cáncer depende del órgano o tipo de célula donde empezó u originó. Por ejemplo, el cáncer que empieza en el estómago se llama cáncer de estómago. Algunos cánceres no forman tumores. Por ejemplo, la leucemia es un cáncer de la médula ósea (el tejido esponjoso dentro de los huesos) (INC, 2007).

3.10.1 Tipos de cáncer

Existen varias maneras de clasificar el cáncer, una clasificación general se relaciona con el tipo de tejido en donde el tumor emerge. Los tres subtipos principales son: los sarcomas, los carcinomas y las leucemias (Malcom, 2001).

- Los sarcomas proceden del tejido conectivo como huesos, cartílagos, nervios, vasos sanguíneos, músculos y tejido adiposo.
- Los carcinomas proceden de tejidos epiteliales como la piel o los epitelios que tapizan las cavidades y órganos corporales; y de los tejidos glandulares de la mama y próstata. Los carcinomas incluyen algunos de los cánceres más frecuentes. Los carcinomas de

estructura similar a la piel se denominan carcinomas de células escamosas. Los que tiene una estructura glandular se denominan adenocarcinomas.

- Las leucemias y los linfomas, incluyen los cánceres de los tejidos formados de las células sanguíneas. Este tipo de enfermedades producen inflamación de los ganglios linfáticos, invasión del bazo y médula ósea, y existe una sobreproducción de células blancas inmaduras (Malcom, 2001).

Debido a que las células epiteliales cubren la piel, el tracto respiratorio, digestivo y por lo tanto se encargan de metabolizar los carcinógenos ingeridos, no es sorprendente que más del 90% de los cánceres ocurran en el epitelio (Malcom, 2001).

3.10.2 El cáncer en México

En México, durante 2007 se registraron 514 420 defunciones, 55.4% fueron hombres y 44.6% de mujeres; de las cuales, los tumores malignos ocuparon el tercer lugar entre las principales causas de muerte del país con 68 815 casos (13.4%), por debajo de los decesos por las enfermedades del sistema circulatorio y las enfermedades endocrinas, nutricionales y metabólicas (INEGI, 2007).

De 1998 a 2007 se observa que las defunciones por tumores malignos tienden a incrementarse, siendo las mujeres las que presentan los porcentajes más altos en este periodo (Fig. 11) (INEGI, 2007).

Porcentaje de defunciones por tumores malignos por sexo según año de ocurrencia, 1998-2007

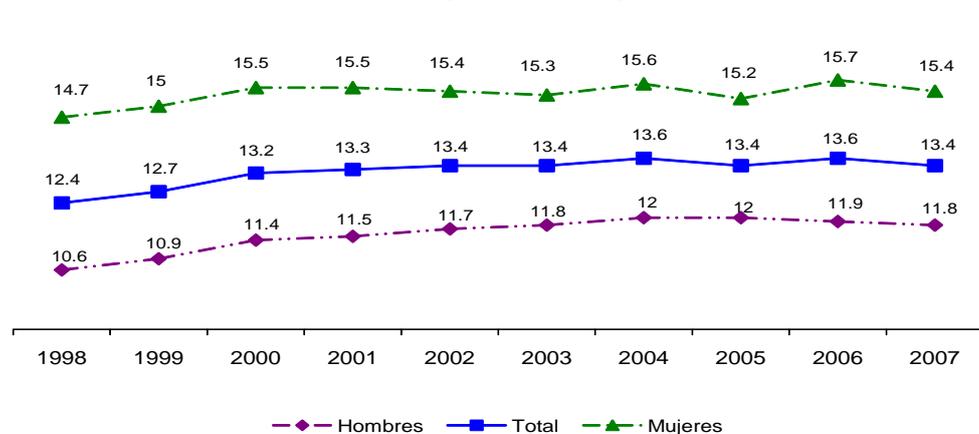


Figura 11. Porcentaje de defunciones por tumores malignos por sexo según año de ocurrencia, 1998-2007 (INEGI, 2007).

Nota: El porcentaje está en relación con el total de defunciones registradas en cada año, en general y por sexo.
Fuente: INEGI. Estadísticas Vitales, 1998-2007. Bases de datos.

Nota: El porcentaje está en relación con el total de defunciones registradas en cada año, en general y por sexo (INEGI, 2007).

En 2007 el cáncer representó la tercera causa de muerte entre las mujeres con 35 303 defunciones (15.4%), mientras en los hombres fue la cuarta causa con 33 509 muertes, lo que representa 11.8% del total de defunciones entre los varones (INEGI, 2007).

Algunos tipos de cáncer se localizan de forma diferenciada en mujeres y hombres, ya sea por factores biológicos o de riesgo, lo que influye en su prevalencia. En las mujeres los tres principales tipos de cáncer que causaron fallecimientos durante 2007 fueron: el de mama (13.8%), cuello del útero (12.1%) e hígado (7.6%); es importante señalar que si bien disminuyó el porcentaje de muertes por estos tipos de cáncer en comparación con 2006, se continúan manteniendo en los primeros lugares (INEGI, 2007).

En los hombres, el cáncer de próstata (15.7%), de tráquea, bronquios y pulmón (14%) y de estómago (9%) fueron las principales causas de muerte por neoplasias malignas durante 2007; al igual que en las mujeres, estas causas son similares a las de 2006, aunque el porcentaje de muertes que se les atribuyen ha disminuido (Fig. 12) (INEGI, 2007).

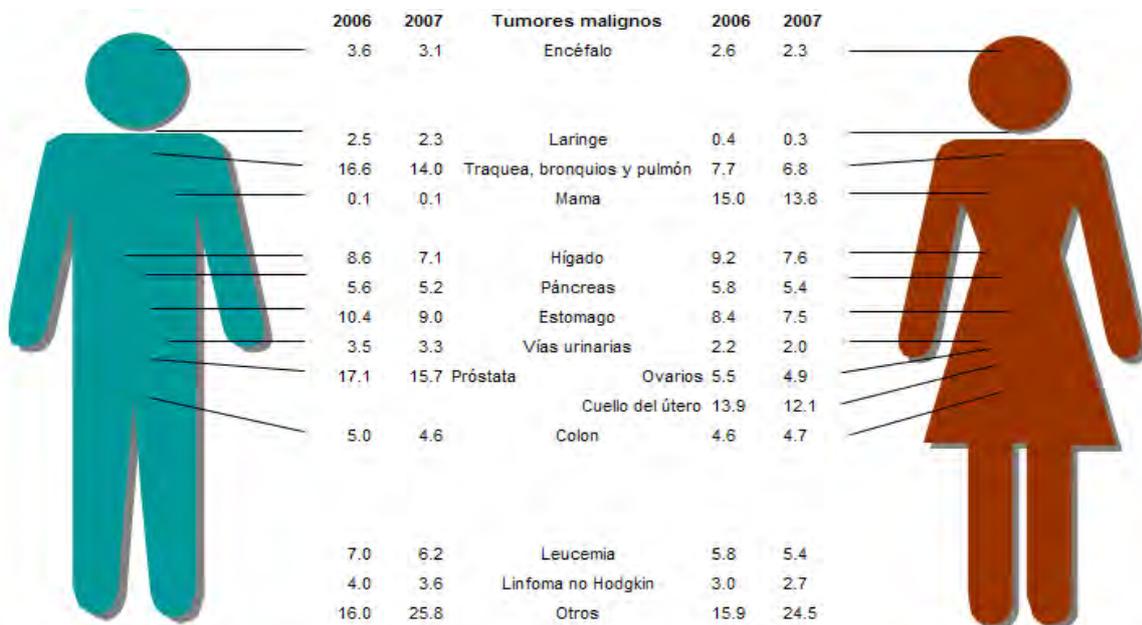


Figura 12. Distribución porcentual de las defunciones por tumores malignos para cada sexo (INEGI, 2007).

Por otra parte, la edad de la población está relacionada con el tipo de cáncer que padece. Los hombres mayores de 60 años presentan mayor incidencia de casos de cáncer de órganos

digestivos, seguido del aparato respiratorio y órganos genitales; en la población menor de 20 años, resalta el cáncer del tejido linfático, de órganos hematopoyéticos y tejidos afines, así como las lesiones en ojo, encéfalo y otras partes del sistema nervioso central y órganos genitales masculinos (siendo común el cáncer testicular) (INEGI, 2007).

En general, se presenta una tendencia a incrementarse el total de casos, excepto en los tumores malignos de hueso y cartílago articulares en adolescentes de 15 a 19 años; órganos genitales de 20 a 29 años, y de ojo, encéfalo y otras partes del sistema nervioso central en niños de 1 a 9 años (Fig. 13) (INEGI, 2007).

En las mujeres, la incidencia de cáncer en menores de 20 años son por: tumores del tejido linfático, de órganos hematopoyéticos y tejidos afines, seguido de ojo, encéfalo y otras partes del sistema nervioso central y los órganos digestivos; y para las mujeres mayores de 60 años destacan los tumores malignos en los órganos digestivos, genitales y mama. Sin embargo, en la población de 50 a 59 años es donde se encuentra la mayor prevalencia de defunciones por estos tipos de cáncer (INEGI, 2007).

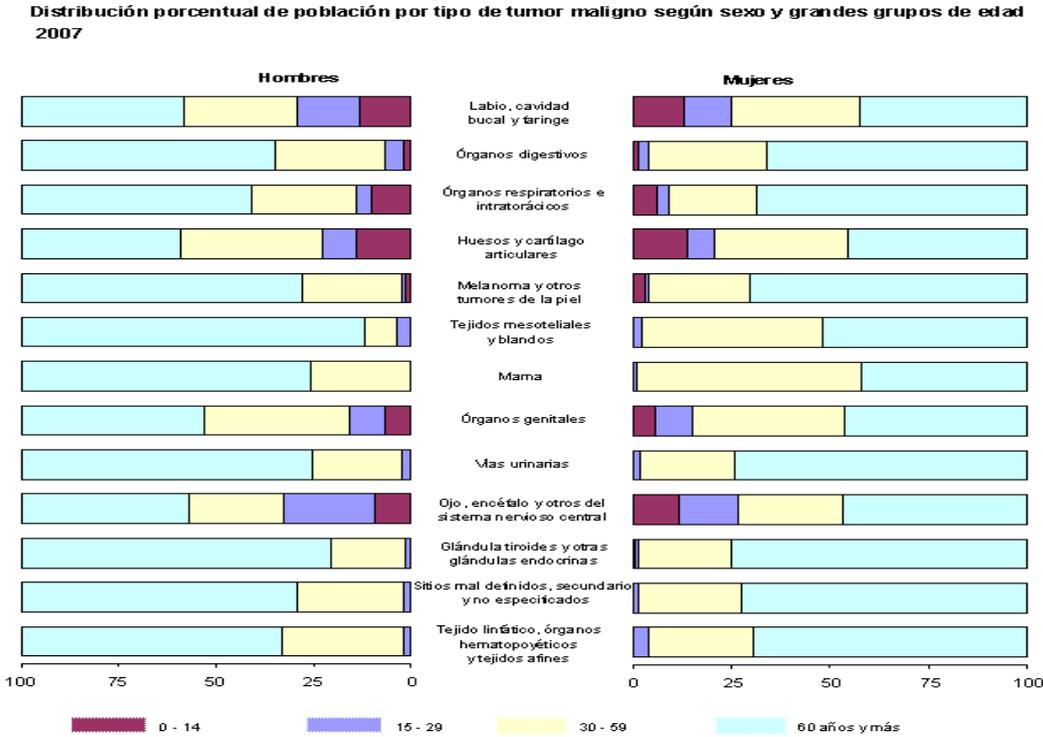


Figura 13. Distribución porcentual de población por tipo de tumor maligno según sexo y grandes grupos de edad (INEGI, 2007).

3.10.3 Tratamiento del cáncer

Como bien se sabe, el cáncer es una enfermedad que si es detectada a tiempo puede ser curable, hoy en día se tratan de establecer terapias individuales en las cuales se combinan los tratamientos, ya que es conocido, que por su etiología genética el cáncer se desarrolla de manera muy particular de paciente a paciente. Existen varios tratamientos como los procesos quirúrgicos, que consisten en extirpar una parte del órgano o tejido, según lo avanzado y el lugar donde se encuentre localizado el cáncer. La quimioterapia consiste en suministrar un medicamento que mata células, y que puede ser utilizado en diversas etapas durante un tratamiento, antes de un proceso quirúrgico, o bien de manera alterna a un tratamiento de radioterapia, este último básicamente consiste en aplicar Rayos X para matar células, reducir el tamaño del tumor y facilitar su extirpación (IMSS, 2008).

3.10.3.1 Quimioterapia

La quimioterapia del cáncer tiene como finalidad causar una lesión citotóxica letal que detenga el progreso del tumor en tratamiento. El ataque suele dirigirse contra los sitios metabólicos esenciales para la multiplicación celular, por ejemplo, los precursores de purina y pirimidina disponibles para la síntesis de ADN o ARN. Lo ideal es que estos fármacos sólo interfirieran con los procesos celulares únicos de las células que conforman las neoplasias, sin embargo, afectan a todas las células que proliferan, tanto normales como anormales. Por este motivo casi todos los agentes antitumorales tienen una curva de dosis y reacción muy inclinada tanto para los efectos tóxicos como para los terapéuticos; en consecuencia es importante ajustar las posologías de los fármacos al estado físico del paciente (Mycek *et al.*, 2004).

Existen algunos antecedentes históricos que dan cuenta del empleo de compuestos químicos para tratar este tipo de padecimientos. Por ejemplo, hace aproximadamente 500 años, se utilizaron algunas preparaciones de plata, zinc y mercurio o la llamada solución de Fowler (arsenito de potasio) que Lissauer, en 1865, la utilizó para tratar a un paciente con leucemia (Parra *et al.*, 2006).

La quimioterapia se inició en la década de los años 1940, con la introducción de las mostazas nitrogenadas, las cuales fueron sintetizadas como armas químicas. Las autopsias

realizadas a los soldados muertos por exposición al llamado gas mostaza, indicaban que estas víctimas presentaban una hipoplasia linfoide generalizada así como mielosupresión (Chabner y Roberts, 2005).

En 1942, Louis Goodman y Alfred Gilman fueron reclutados por el Departamento de Defensa de los Estados Unidos, con el fin de evaluar el potencial terapéutico de una serie de toxinas desarrolladas para la guerra química. Goodman y Gilman tomando en cuenta los datos obtenidos por las autopsias, propusieron que a dosis bajas, de un agente similar podría causar una regresión de un tumor linfático. Después de evaluaciones exitosas en ratones, ambos farmacólogos convencieron a su colaborador, el cirujano Gustav Lindskog para que tratara a un paciente que sufría de un linfoma del tipo no-Hodgkin con la mecloroetamina, una mostaza nitrogenada. No obstante, que se produjo una remisión del tumor por algunas semanas, éste continuó su crecimiento hasta la muerte del paciente. Sin embargo, por primera vez se estableció que la administración sistemática de algunos fármacos puede inducir la regresión de tumores cancerosos (Chabner y Roberts, 2005).

Una de las principales características de estos derivados nitrogenados es su habilidad alquilante, propiedad que permitió su desarrollo para el uso clínico. No obstante de que los primeros resultados utilizando quimioterapia en contra del cáncer fueron limitados, fue claro que esta aproximación mostraba un enorme potencial para obtener fármacos antineoplásicos. Este argumento, motivó la creación de un programa de desarrollo de fármacos anticancerosos, en especial en Estados Unidos de América y en 1955, se autorizó la creación del Centro de Servicio Nacional de la Quimioterapia de Cáncer en el Instituto Nacional del Cáncer. Desde entonces se han aprobado más de 30 fármacos para el uso en el tratamiento de los pacientes con enfermedades malignas (Chabner y Roberts, 2005).

3.11 Principios activos de origen natural

El aislamiento de compuestos anticancerosos de origen natural se ha efectuado a partir de diferentes estrategias: una de ellas es aquella que toma en cuenta los antecedentes etnomédicos de las especies bajo estudio; otra es el tamizaje; inclusive por medio de la evaluación directa de estructuras novedosas (Parra *et al.*, 2006).

En 1982, se publicaron aproximadamente 3000 especies de plantas que etnomédicamente se habían referido como anticancerosas (Hartwell, 1982). Sin embargo, debido a que algunos síntomas del cáncer se pueden confundir con procesos inflamatorios simples, es difícil separar las posibles especies anticancerosas con aquellas que presentan propiedades antiinflamatorias (Parra *et al.*, 2006).

En la medicina tradicional de diversas regiones del mundo se describen las propiedades beneficiosas de *Catharantus roseus L.*, especie conocida comúnmente como *Vinca rosea*, por lo que hoy en día se le conoce simplemente como “vinca” (Fig. 14-1). Esta especie había sido referida como hipoglucemiante; sin embargo, cuando se estudiaron sus efectos farmacológicos se encontró que provocaba granulocitopenia y depresión de la médula ósea de la rata. Investigaciones posteriores realizadas por Johnson y colaboradores, demostraron que algunas fracciones de alcaloides de la vinca tenían actividad contra la neoplasia linfocítica murina. El estudio químico permitió el aislamiento de cuatro alcaloides diméricos activos: vinblastina, vincristina, vinleurosina y vinrosina (Fig. 14-2). (Calabresi y Chabner en Hardman *et al.*, 1996; Cragg y Newman, 2005).

La vincristina se emplea para tratar la leucemia linfoblástica aguda en niños, el tumor de Wilms, el sarcoma de Ewing de tejidos blandos y los linfomas de Hodgkin y no-Hodgkin, así como algunas otras neoplasias que proliferan con rapidez. La vinblastina se administra con bleomicina y cisplatino para tratar el carcinoma testicular metastásico. Así mismo se utiliza para los linfomas de Hodgkin y no Hodgkin diseminados (Mycek *et al.*, 2004).

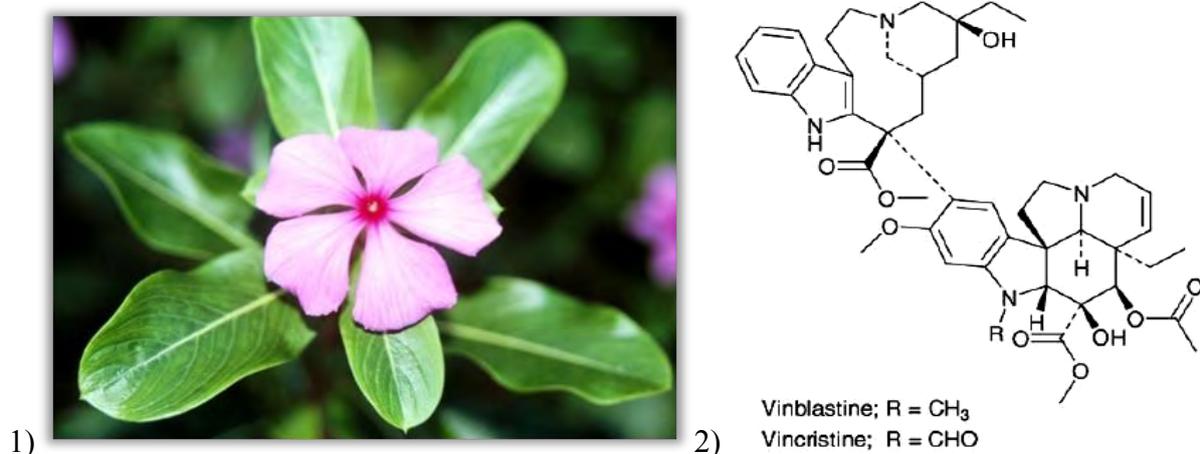


Figura 14. 1) Flor de *Catharantus roseus L.* Tomada de <http://www.nybg.org/bsci/belize/gallery.html>;
2) Estructuras químicas de la vinblastina y vincristina. Tomada de Cragg y Newman, 2005.

En la década de los 60's se realizó una evaluación masiva de las propiedades citotóxicas de cientos de extractos de especies vegetales por el Instituto Nacional del Cáncer (EUA). Como resultado de esta búsqueda, se descubrió la propiedad citotóxica del tejo del pacífico (*Taxus brevifolia* Nutt.) (Fig. 15-1). Estudios posteriores permitieron el aislamiento y elucidación estructural del taxol, un diterpeno responsable de la propiedad citotóxica del tejo (Chabner y Roberts, 2005; Cragg y Newman, 2005; Mann, 2002).

El taxol tiene buena actividad contra el cáncer ovárico avanzado y el cáncer de mama metastásico. Los estudios iniciales indican resultados favorables en el cáncer pulmonar de células pequeñas, el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, y otros diversos cánceres. Su administración combinada con otros fármacos antineoplásicos está bajo estudio (Mycek *et al.*, 2004).

El taxol hoy comercializado con el nombre de paclitaxel® (Fig. 15-2) es el compuesto anticanceroso más vendido en el mundo. En 2000, las ganancias por la venta de este compuesto superaron a los 1,5 mil millones de dólares anuales (Mann, 2002).

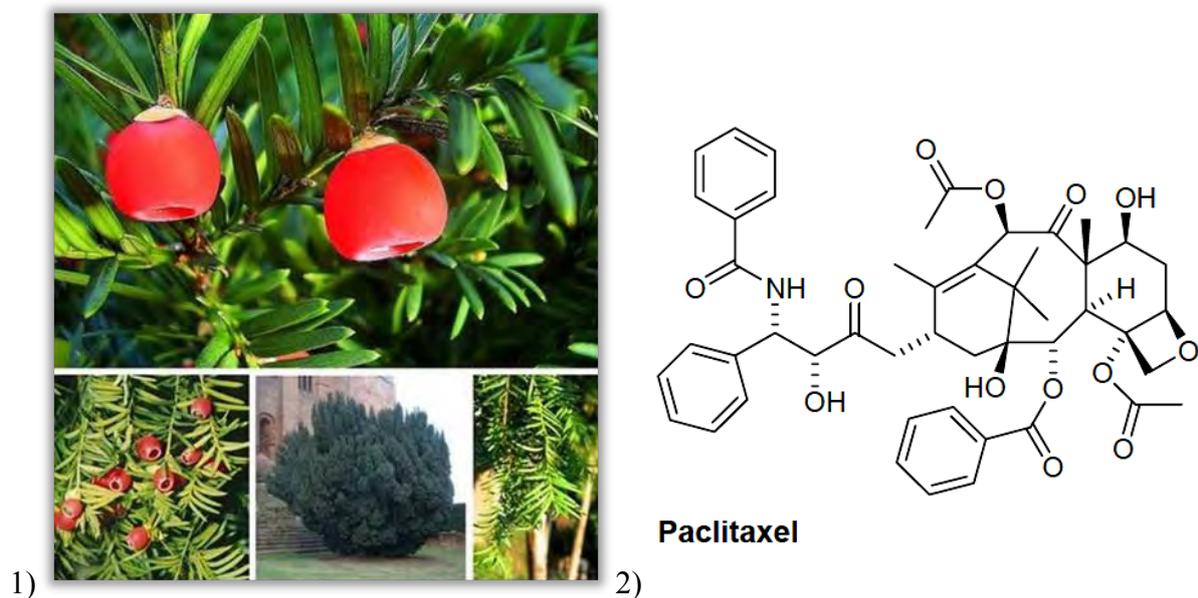


Figura 15. 1) *Taxus brevifolia* Nutt. Tomada de http://www.yorkseed.com/catalog/index.php?main_page=index&cPath=5_119&zenid=d57niv74cltdu3i99apmh23g12; 2) Estructura química del paclitaxel. Tomada de Cragg y Newman, 2005.

La especie *Podophyllum peltatum* L., se empleó como remedio popular por los indígenas de América y los primeros colonizadores (Fig. 16-1), por sus efectos eméticos, catárticos y antihelmínticos. A partir de esta planta, se aisló la podofilotoxina, de la cual, se obtuvieron dos glucósidos semisintéticos, el etopósido y el tenipósido (Fig. 16-2), los cuales tienen aplicación en el cáncer testicular y el carcinoma de células pequeñas del pulmón (Calabresi y Chabner en Hardman *et al.*, 1996).

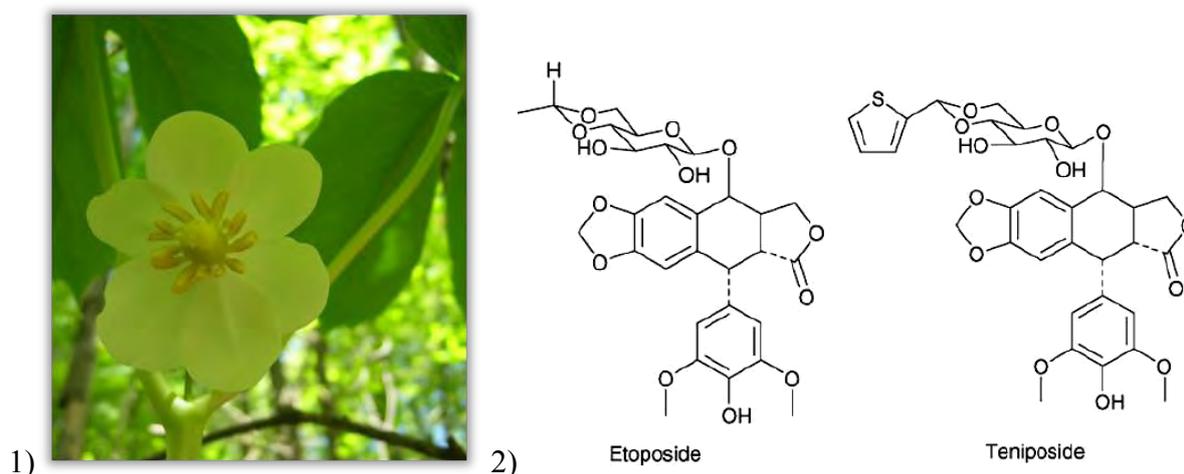


Figura 16. 1) Flor de *Podophyllum peltatum* L. Tomada de http://en.wikipedia.org/wiki/Podophyllum_peltatum; 2) Estructuras químicas del etopósido y tenipósido. Tomadas de Cragg y Newman, 2005.

Otros compuestos con importancia clínica son la camptotecina y sus derivados, el irinotecano y el topotecano. Así también la homoharringtonina, la elipticina y su derivado, el eliptinium (Fig. 17). Este último, empleado en Francia para el tratamiento del cáncer de mama (Cragg y Newman, 2005).

Desafortunadamente todos los fármacos anticancerosos ya sean de origen natural o sintético, producen efectos colaterales, siendo en ocasiones bastante severos para el paciente, adicionalmente las células cancerosas, a la larga desarrollan resistencia a los diferentes fármacos, lo que demanda una continua búsqueda de nuevos fármacos anticancerosos con menos efectos tóxicos y con mayor selectividad (Flores-Rosete y Martínez-Vázquez, 2008).

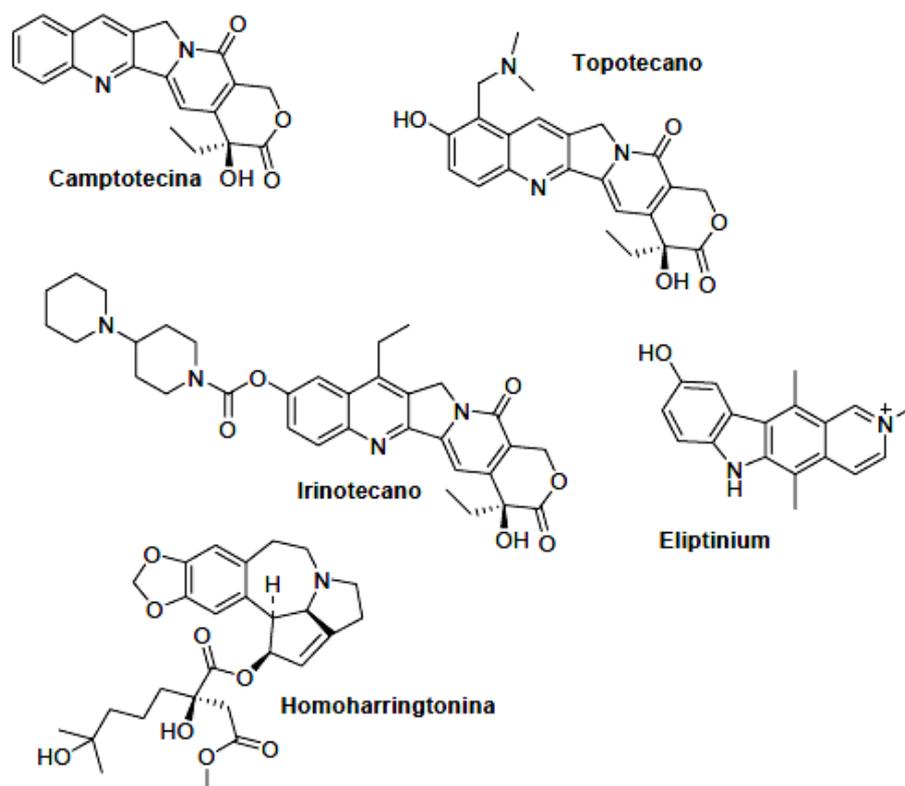


Figura 17. Compuestos de origen natural y algunos derivados con importancia clínica en el tratamiento del cáncer. Tomadas de Cragg y Newman, 2005.

3.12 Inflamación

La inflamación es un sistema complejo de interacciones entre los factores solubles (quimioquinas, las cuales regulan la migración direccional de leucocitos durante estados de la inflamación) y las células que pueden presentarse en cualquier tejido en respuesta a la lesión traumática, infecciosa, tóxica o autoinmune. El proceso conduce normalmente a la recuperación de la infección y a su curación, sin embargo, si la destrucción y la reparación no se ponen en fase correctamente, la inflamación puede conducir al daño persistente del tejido por los leucocitos (Nathan, 2002).

Las características de la inflamación, consisten en la presencia de dolor, aumento de temperatura, hinchazón y enrojecimiento, (en ocasiones la pérdida de la función). Estos signos (calor, rubor y dolor) de manera general constituyen los efectos de cualquier proceso inflamatorio (Gijón y De Miguel, 1997).

3.12.1 Tipos de inflamación

La inflamación según su duración se divide en aguda y crónica.

- La inflamación aguda es de duración relativamente corta (minutos, horas o unos pocos días), se inicia muy rápidamente y se caracteriza por el exudado de fluidos plasmáticos y la migración de leucocitos polimorfonucleares (LPMN), predominantemente neutrófilos.
- La inflamación crónica dura semanas, meses o incluso años y se caracteriza histológicamente por el infiltrado de linfocitos, neutrófilos, eosinófilos, fibroblastos y macrófagos con la proliferación de vasos sanguíneos y tejido conectivo (Muller, 2002).

3.13 Relación cáncer-inflamación

La relación funcional entre la inflamación y cáncer no es nueva. En 1863 Virchow propuso que el origen del cáncer estaba en sitios de inflamación crónica, su hipótesis, en parte se basó en que algunas clases de irritantes, junto con una lesión de tejido y el proceso de inflamación que sobreviene, aumentan la proliferación celular (Coussens y Werb, 2002).

Recientes datos han señalado que la inflamación es un componente crítico en la progresión tumoral. Muchos cánceres se presentan en sitios de infección, irritación crónica e inflamación. En la actualidad, es claro que el microambiente de los tumores está dirigido en gran parte por células inflamatorias y es indispensable en el proceso neoplásico, fomentando la proliferación, la sobrevivencia y la migración. Adicionalmente, las células tumorales han copiado algunas de las señales moleculares del sistema inmune innato, como son las quimioquinas, la invasión por receptores, la migración y la metástasis (Coussens y Werb, 2002).

IV. JUSTIFICACIÓN

Tomando en cuenta la gran diversidad vegetal y el conocimiento empírico dentro de la medicina tradicional, la investigación en productos naturales se ha enfocado, entre otros objetivos, en la búsqueda de los metabolitos secundarios con actividad antiinflamatoria y anticancerígena (Kovacs *et al*, 2008). Las especies de la familia Orchidaceae han sido poco estudiadas tanto desde el punto de vista químico como de actividad biológica, algunas especies han demostrado poseer actividad antitumoral, citotóxica, antiinflamatoria, relajante, antialérgica y espasmolítica (Kovacs *et al.*, 2008).

Por otra parte en nuestro país el cáncer es un problema de salud pública. De acuerdo con las estadísticas es la tercera causa de muerte, para el año 2007 se presentaron 68 815 defunciones por este padecimiento (INEGI, 2007). Se estima que cada año el número de casos de cáncer se incrementará, por lo cual se hace importante la búsqueda de nuevas moléculas que permitan el desarrollo de fármacos para el tratamiento de esta enfermedad. Bajo esta perspectiva se planteó la presente investigación en la que se evaluó la actividad antiinflamatoria y citotóxica de los extractos orgánicos y compuestos aislados de hojas de *Oncidium sphacelatum*.

V. HIPÓTESIS

De algunas especies de Orchidaceae se han aislado metabolitos secundarios con actividad citotóxica, entonces es factible suponer que *Oncidium sphacelatum*, dada la relación filogenética, sintetice metabolitos secundarios con actividad citotóxica.

VI. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Realizar el estudio fitoquímico de las hojas de *Oncidium sphacelatum*, así como evaluar la actividad antiinflamatoria y citotóxica de extractos orgánicos y de sus compuestos mayoritarios.

6.2 Objetivos particulares

- Obtener extractos orgánicos (hexano, acetato de etilo, metanol e hidroalcohólico) de hojas de *Oncidium sphacelatum*.
- Evaluar la actividad antiinflamatoria y citotóxica de los extractos orgánicos
- Aislar los compuestos mayoritarios de los extractos por medio de métodos cromatográficos.
- Purificar e identificar los compuestos aislados.
- Evaluar la actividad antiinflamatoria y citotóxica de los compuestos aislados.

VII. MATERIAL Y MÉTODO

7.1 Material biológico

El material vegetal (hojas) fue donado por el Jardín Botánico del Bosque de Chapultepec (México D. F.) en abril de 2009 (carta 1 del anexo). Se prensaron dos ejemplares de herbario, los cuales fueron depositados en el herbario MEXU con los siguientes números de registro 175258 (Fig. 18) y 175265 (Fig. 19) (carta 2 del anexo). Las hojas fueron trasladadas a las instalaciones del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, para su procesamiento fitoquímico.



18. Ejemplar de *Oncidium sphacelatum* registrado en el herbario MEXU con el número 175258.



19. Ejemplar de *Oncidium sphacelatum* registrado en el herbario MEXU con el número 175265.

7.2 Estudio fitoquímico

El análisis fitoquímico de las hojas de *Oncidium sphacelatum* se realizó en el Laboratorio 1-4 de Productos Naturales del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Las hojas de *Oncidium sphacelatum* fueron deshidratadas a temperatura ambiente y a la sombra, posteriormente ya secas se molieron en una licuadora industrial marca internacional modelo LI-5. Las hojas secas y molidas se pesaron en una balanza granataria marca Ohaus GT 4800, obteniendo un total de 500 g.

Se colocaron 250 g de hoja en un matraz erlenmeyer de 2000 mL y se sometieron a maceración sucesiva con hexano, acetato de etilo y metanol a temperatura ambiente durante 48 horas, repitiendo el procedimiento 3 veces por cada disolvente (Fig. 20-1)

Se colocaron 250 g de hoja en un matraz balón de 2000 mL y se extrajeron a reflujo con una mezcla de etanol-agua destilada (6:4) durante 30 minutos, repitiendo el procedimiento 3 veces consecutivas (Fig. 20-2).



Figuras 20. Hojas de *Oncidium sphacelatum* secas y molidas 1) sometidas a maceración con metanol.
2) sometidas a reflujo con una mezcla de etanol-agua 6:4.

El exceso de disolvente fue eliminado por destilación a presión reducida en un rotavapor marca Büchi R-480.

7.2.1 Partición de los extractos metanólico e hidroalcohólico

Los extractos metanólico e hidroalcohólico fueron sometidos a bipartición con hexano, acetato de etilo y metanol, con el fin de extraer de manera preferencial los compuestos de polaridad media como se muestra en los diagramas de flujo 1 y 2.

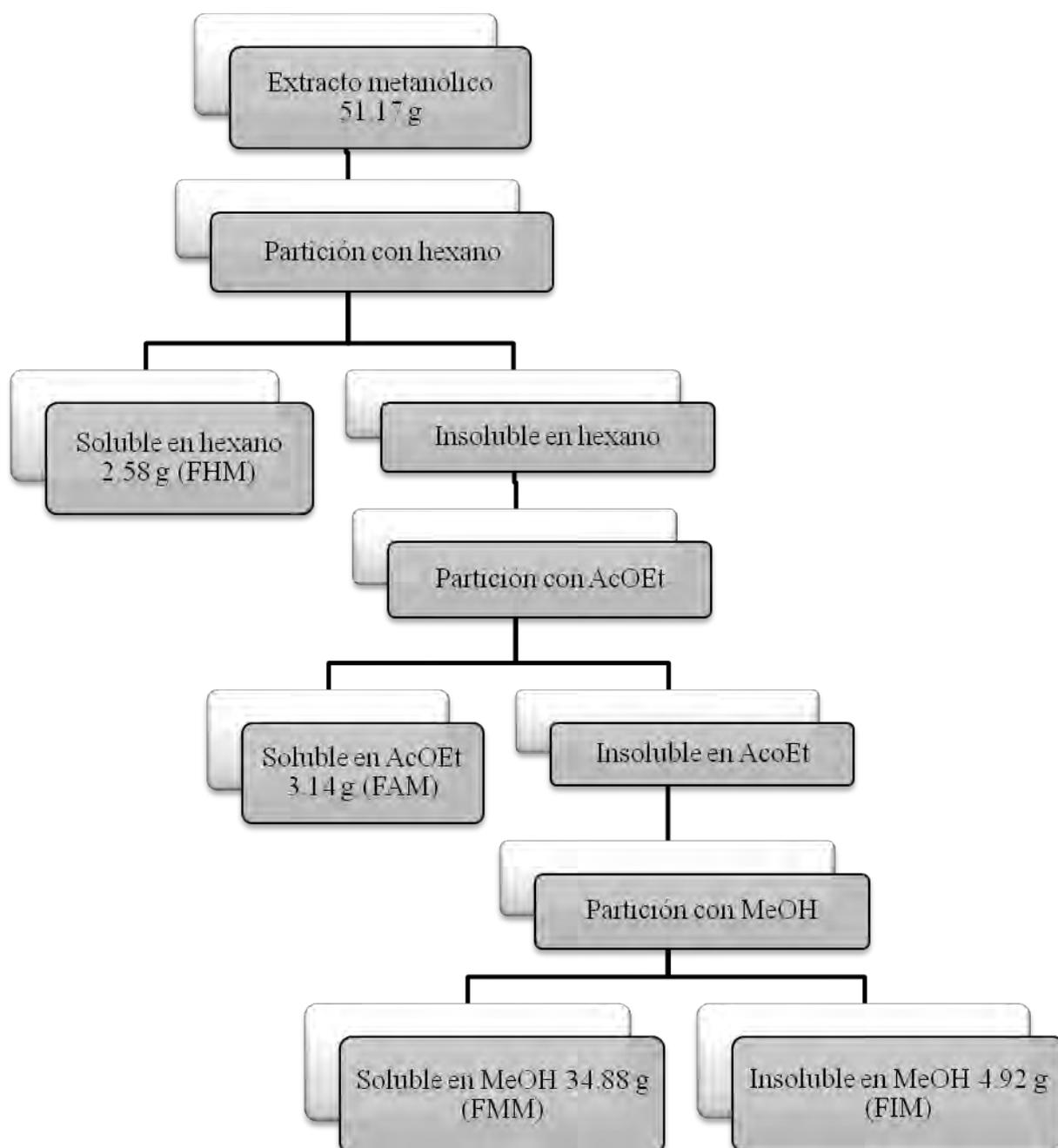


Diagrama de flujo 1. Partición del extracto metanólico de hojas de *Oncidium sphecelatum*.

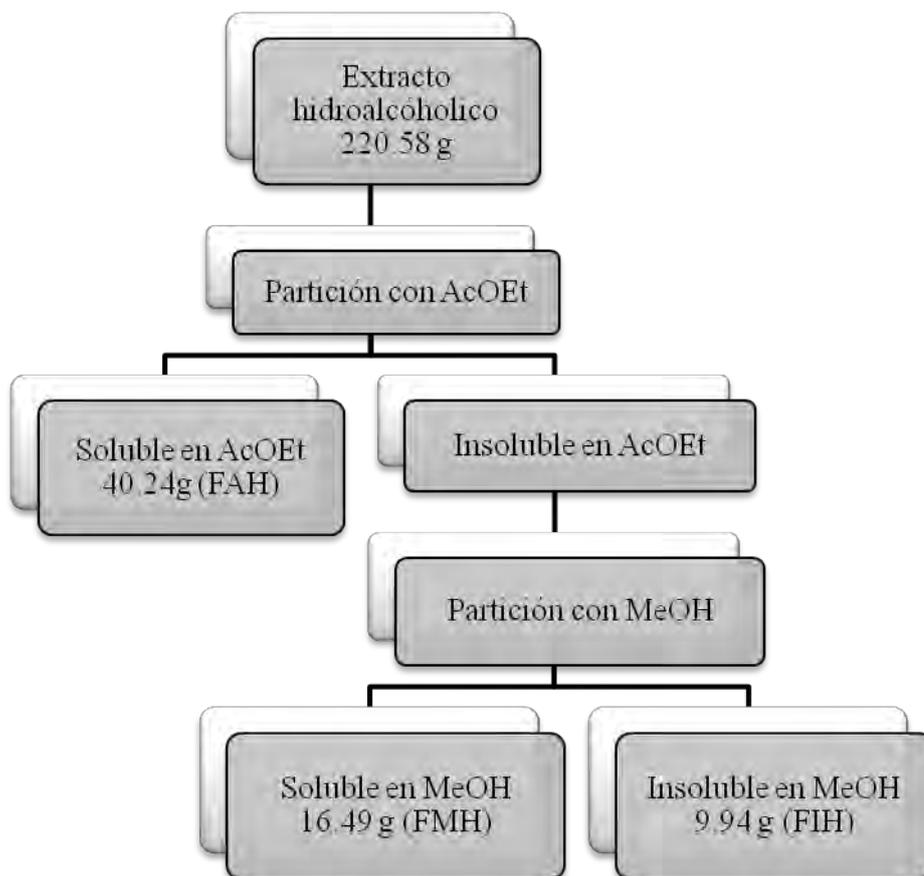


Diagrama de flujo 2. Partición del extracto hidroalcohólico de hojas de *Oncidium sphacelatum*.

7.3 Análisis cromatográfico

La separación y purificación de los extractos se realizó por cromatografía en columna abierta (CC) a presión reducida, en columnas de vidrio de diferentes capacidades de acuerdo a la cantidad de muestra a analizar, empacadas con gel de sílice (MN-Kieselgel G Macherey-Nagel) en una proporción 3:1 con respecto al peso del extracto a separar, mientras que para la adsorción del extracto en gel de sílice se utilizó una proporción 1:1. Se emplearon como eluyentes mezclas de disolventes con polaridad creciente, iniciando con hexano (100%), prosiguiendo con mezclas de hexano-acetato de etilo (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 1:1, 4:6, 3:7, 2:8, y 1:9), acetato de etilo (100 %), mezclas de acetato de etilo-metanol (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 1:1, 4:6, 3:7, 2:8, y 1:9) y terminando con metanol (100%), colectándose fracciones de 250, 100 y 15 mL cada una, dependiendo del extracto analizado.

Para el análisis cromatográfico de los extractos así como de las fracciones de los mismos, se utilizó la cromatografía en capa fina (CCF) para lo cual se emplearon, placas de aluminio

recubiertas de gel de sílice (silical gel 60/UV250, Alugram) y se utilizó como revelador luz UV y/o sulfato cérico (Ce_2SO_4) al 1% en ácido sulfúrico (H_2SO_4 Baeker) 2N. Aquellas fracciones que presentaron un patrón cromatográfico similar en CCF fueron reunidas.

Los compuestos fueron purificados por precipitaciones sucesivas, una vez precipitado el compuesto y para verificar su pureza se realizó CCF.

7.4 Reacción de acetilación

Para la obtención del 5,6-diacetato-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona y el acetato de pectolinarina se realizó una reacción de acetilación, para lo cual 300 mg de extracto o compuesto (100 mg), se colocaron en un matraz balón de 50 mL, se adicionó piridina (1 ó 2 mL) y anhídrido acético (1 ó 2 mL) según la cantidad a reaccionar. La mezcla de reacción se sometió a calentamiento (aproximadamente 100°C) durante 6 horas, una vez pasado este tiempo se retiró el matraz balón se agregó hielo y agua destilada, el precipitado obtenido se filtró a presión reducida. El matraz balón fue lavado con AcOEt, dicho lavado se colocó en un matraz erlenmeyer junto con el precipitado de la reacción disuelto en AcOEt, para eliminar el agua se le agregó sulfato de sodio anhidro, este se filtró mediante un embudo con algodón desengrasado y se colocó en un matraz balón para la evaporación del disolvente a presión reducida, la evaporación del disolvente dejó como residuo un precipitado. Se tomó una pequeña cantidad del producto acetilado para realizar una CCF la cual reveló una mezcla que posteriormente se purificó mediante CC en ambos casos.

7.5 Reacción de hidrólisis

La fracción insoluble del extracto metanólico (FIM) se sometió a una reacción de hidrólisis, colocando en un matraz balón de 50 mL, 1 g de extracto, 2 mL de etanol (EtOH) y 1 mL de ácido clorhídrico (HCl) concentrado. La mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 4 horas, una vez pasado este tiempo se retiró el matraz balón y se agregó hielo y agua destilada fría, se filtró a vacío. El precipitado se disolvió con una mezcla de metanol-agua destilada 1:1, mientras que las aguas madres se extrajeron con AcOEt para posteriormente evaporar el disolvente a presión reducida, este procedimiento dejó como residuo 408.7 mg de un precipitado de color verde. Se tomó una pequeña cantidad del producto de reacción para realizar una CCF la cual reveló una mezcla que posteriormente se purificó mediante CC.

7.6 identificación de compuestos

La identificación de los compuestos se realizó por medio de métodos físicos (punto de fusión) espectroscópicos y espectrométricos (RMN, ^1H , ^{13}C , IR y Espectrometría de masas).

Punto de fusión: Los puntos de fusión (p.f.) ($^{\circ}\text{C}$) se determinaron en un aparato Fischer Jones y se reportan los valores sin corrección.

Espectroscopia de Infrarrojo: Los espectros en el Infrarrojo (IR) se obtuvieron en un espectrofotómetro Nicolet modelo Magna IR Spectrofotometer 750, en pastilla de bromuro de potasio (KBr). Las absorbancias se presentan en cm^{-1} .

Espectrometría de masas: Los espectros de masas (EM) se obtuvieron en un equipo Hewlett-Packard modelo 5945 A, JMS-SX 102 JEOL y JMS-AX505 mediante la técnica de impacto electrónico a 70 eV. Los resultados se presentaron como relación de masa respecto de la carga (m/z).

Resonancia magnética nuclear: Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica RMN (^1H) y de carbono 13 (^{13}C) se corrieron en espectrofotómetros Varian Gemini XL-200, Varian VXR 300. Para disolver las muestras, se utilizó el cloroformo deuterado (CDCl_3) Aldrich, se empleó el tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los desplazamientos químicos (δ) están expresados en partes por millón (ppm). Las señales protónicas se indicaron con las siguientes abreviaturas: (s) singulete, (d) doblete, (t) triplete, (q) cuádruplete y (m) multiplete. Las constantes de acoplamiento (J) están expresadas en Hertz (Hz). Los experimentos adicionales de RMN incluyeron DEPT, COSY y HETCOR.

Aquellos compuestos conocidos fueron identificados por comparación de sus datos espectroscópicos y constantes físicas con lo informado en la literatura.

7.7 Evaluación de la actividad antiinflamatoria

La evaluación de la actividad antiinflamatoria se realizó mediante el ensayo de edema inducido en oreja de ratón por el 13-acetato de 12-*O*-tetradecailforbol (TPA), siguiendo la metodología propuesta por Della y colaboradores (1994).

Ensayo de TPA: Se emplearon ratones machos (cepa CD1, de 20 a 25 g) los cuales se pesaron y fueron separados al azar en grupos de tres: un grupo control y dos grupos tratados. Cada grupo fue anestesiado con pentobarbital sódico (PBS) a una dosis de 31.5 mg/kg por vía intraperitoneal (Fig. 21-1). A los grupos control y tratados se les aplicó tópicamente 10 μ L de la solución etanólica de TPA (250 μ g/mL) en la oreja derecha, y 10 μ L de etanol en la oreja izquierda aplicando para ambos casos 5 μ L en cada cara de la oreja con ayuda de una micropipeta Hamilton (Fig. 21-2). 10 minutos después de la aplicación de TPA, a los grupos tratados se les aplicó 20 μ L del extracto o compuesto a evaluar en ambas caras de la oreja derecha a las dosis de 1.0 o 0.31 μ mol/oreja disueltos en disolventes afines a los extractos y compuestos (diclometano, acetato de etilo y metanol), y en la oreja izquierda sólo se aplicó 20 μ L del vehículo (Fig. 21-3). Se dejaron 4h de post-aplicación (Fig. 21-4) y eventualmente cada grupo de animales fue sacrificado por dislocación cervical tomando biopsias de cada oreja con un sacabocados de 7 mm de diámetro (Fig. 21-5). Cada una de las orejas control y tratadas fueron depositadas en tubos de eppendorff previamente pesados. Se obtuvieron las diferencias de pesos entre la oreja control y la tratada de cada animal. El porcentaje de inhibición fue calculado con la siguiente ecuación (Merlos *et al.*, 1991).

$$\% \text{ Inhibición} = 100 - [(\bar{x} \text{ tratado} / \bar{x} \text{ control}) 100]$$

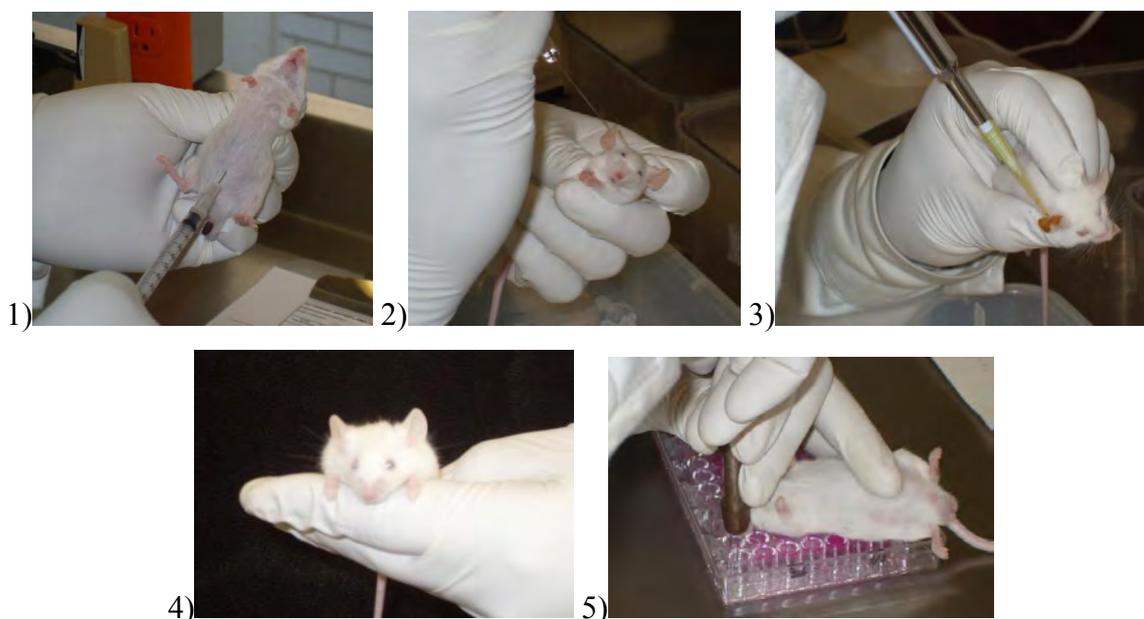


Figura. 21. Modelo de 13-acetato de 12-*O*-tetradecailforbol (TPA) en oreja de ratón. 1) Aplicación de PBS (pentobarbital sódico) vía intraperitoneal. 2) Aplicación de TPA (13-acetato de 12-*O*-tetradecailforbol) vía tópica. 3) Aplicación del compuesto a evaluar. 4) Edema en oreja de ratón. 5) Toma de biopsias de las orejas.

Análisis estadístico: Los resultados se analizaron mediante una prueba de *t* de student y una prueba de Dunnet, utilizando el programa Sigma-stat (2.0). El nivel de significancia en todos los análisis fue de $p < 0.05$.

7.8 Evaluación de la actividad citotóxica

La evaluación de la actividad citotóxica se efectuó mediante el ensayo de la sulforodamina B (SRB) de acuerdo con la metodología propuesta por Monks y colaboradores (1991), que se describe a continuación:

Cultivos celulares: Se emplearon seis líneas celulares de cáncer humano: cáncer de colón (HCT-15), cáncer de mama (MCF-7), sistema nervioso central SNC (U251), leucemia mieloblastica crónica (K562), adenocarcinoma de pulmón (SKLU-1) y cáncer de próstata (PC-3), provenientes del Instituto Nacional del Cáncer (INC) de los Estados Unidos de Norteamérica, las cuales fueron cultivadas en medio RPMI-1640 adicionado con 10% de Suero Fetal Bovino (SFB), 2 μ M glutamina. Los cultivos celulares se mantuvieron en una incubadora a una atmósfera de 5% de CO₂, a una temperatura de 37 °C y un ambiente saturado de humedad.

Preparación e inoculación de las células: Las células adheridas a las paredes de los frascos de cultivo fueron removidas con 2 ó 3 mL de solución tripsina-EDTA (Etilen-diamin-treta acético) al 0.05%. Posteriormente la tripsina fue inactivada adicionando 10 mL de medio RPMI-1640 adicionado con 5% de SFB, las células se disociaron con pipeteo suave, la densidad y viabilidad de las líneas celulares fueron contadas en un hemacitómetro y evaluadas por exclusión con azul de tripano. Después de ser contadas las células se procedió a hacer una dilución para obtener una densidad adecuada para cada línea. La suspensión celular se sembró en placas de 96 pozos. Una vez hecho lo anterior, todas las líneas celulares fueron incubadas por un período de 24 h a 37 °C y 5% de CO₂ antes de adicionar los extractos y compuestos a evaluar.

Dilución de los extractos y compuestos evaluados: Los extractos se evaluaron a una concentración de 50 μ g/mL y los compuestos a 50 μ M/mL, ambos fueron solubilizados en dimetilsulfóxido (DMSO) (40 μ M), en diluciones de 0.1 a 0.05% dependiendo de la solubilización de los extractos y compuestos. Inmediatamente después de la preparación de

las soluciones 100 µL de cada disolución se agregó a los pozos. Dado que los compuestos y extractos a evaluar no son filtrados o esterilizados la contaminación bacterial se controló por la adición de gentamicina. Se utilizó como control positivo doxorubicina. Los cultivos con tratamiento y el control se incubaron por un período de 48 h a 37 °C en una atmósfera de 5% de CO₂ y 100% de humedad. El crecimiento y viabilidad celular se evaluó mediante la técnica de sulforodamina B (SRB).

Ensayo Sulforodamina B: Transcurridas las 48 h, los cultivos celulares se fijaron *in situ* adicionando 50 µL de ácido tricloroacético (TCA) frío (50% p/v), los cultivos se incubaron por 60 min a 4 °C. Transcurrido este tiempo se desechó el sobrenadante por decantación y los cultivos se lavaron cinco veces con agua desionizada, se dejó secar por 24 h. Posteriormente se adicionó a los pozos 100 µL de solución SRB (0.4% p/v en ácido acético al 1%) durante 10 min, el exceso de SRB se removió lavando cinco veces con ácido acético al 1%, se dejó secar por 24 h. Finalmente, el botón celular teñido se solubilizó con buffer Tris y la densidad óptica (DO) fue leída en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 515 nm. (Lector de ELISA BIO-TEK. ELx 808). La densidad óptica es proporcional al crecimiento celular e inversamente proporcional al grado de citotoxicidad de un extracto o compuesto prueba (Houghton *et al.*, 2007). La citotoxicidad es reportada como el porcentaje de inhibición del crecimiento celular y se determinó de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\% \text{ Inhibición del crecimiento} = 100 - (\text{DO (muestra)} / \text{DO (vehículo)}) * 100$$

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Rendimiento de los extractos

Los extractos se obtuvieron por maceración sucesiva con disolventes de diferente polaridad, en el cuadro 1 se muestra la cantidad de extracto orgánico y los rendimientos obtenidos, los cuales se calcularon como porcentaje a partir de 250 g de hoja de *Oncidium sphacelatum*.

Cuadro 1. Rendimiento de los extractos orgánicos de hojas de *Oncidium sphacelatum*.

Extracto	Cantidad obtenida (g)	Rendimiento (%)
Hexánico	23.13	9.252
Acetato de etilo	6.63	2.652
Metanólico	51.17	20.468
FHM	2.58	1.032
FAM	3.14	1.256
FMM	34.88	13.952
FIM	4.92	1.968
Hidroalcohólico	220.58	88.232
FAH	40.24	16.096
FMH	16.49	6.596
FIH	9.94	3.976

8.2 Separación e identificación de compuestos

Los extractos con mayor actividad biológica fueron el extracto de acetato de etilo, el extracto metanólico, la fracción de acetato de etilo del extracto metanólico (FAM) y la fracción de acetato de etilo del extracto hidroalcohólico (FAH). Con el fin de aislar los metabolitos secundarios, posibles responsables de la actividad biológica, se realizó el análisis cromatográfico de dichos extractos.

8.2.1 Extracto de acetato de etilo

Se separaron 6.63 g de extracto acetato de etilo, por medio de CC, empleando disolventes de polaridad creciente. Se colectaron un total de 176 fracciones de 250 mL cada una (Cuadro 2).

Cuadro 2. Fracciones obtenidas de la cromatografía del extracto de acetato de etilo de hojas de *Oncidium sphacelatum*.

Fracción	Disolvente	Proporción (%)
1-7	Hexano	100
8-31	Hexano/AcOEt	9:1
32-42	Hexano/AcOEt	8:2
43-57	Hexano/AcOEt	7:3
58-68	Hexano/AcOEt	6:4
69-95	Hexano/AcOEt	1:1
96-98	AcOEt/Hexano	6:4
99-110	AcOEt/Hexano	7:3
111-120	AcOEt/Hexano	8:2
121-122	AcOEt/Hexano	9:1
123-125	AcOEt	100
126-146	AcOEt/MeOH	9:1
147-159	AcOEt/MeOH	8:2
160-165	AcOEt/MeOH	7:3
166-170	AcOEt/MeOH	1:1
171-176	MeOH	100

Las fracciones eluidas con una mezcla de AcOEt/Hexano (8:2) mostraron un perfil cromatográfico similar en CCF por lo que fueron reunidas. El residuo obtenido (R111) se purificó por medio de CC. Se colectaron un total de 56 fracciones de 100 mL cada una (Cuadro 3).

Cuadro 3. Fracciones obtenidas de la cromatografía de R111 proveniente del extracto de acetato de etilo de hojas de *Oncidium sphacelatum*.

Fracción	Disolvente	Proporción (%)
1-2	Hexano	100
3-4	Hexano/AcOEt	9:1

5-7	Hexano/AcOEt	8:2
8-10	Hexano/AcOEt	7:3
11-13	Hexano/AcOEt	6:4
14-16	Hexano/AcOEt	1:1
17-31	AcOEt/Hexano	6:4
32-34	AcOEt/Hexano	7:3
35-38	AcOEt/Hexano	8:2
39-41	AcOEt/Hexano	9:1
42-44	AcOEt	100
45-48	AcOEt/MeOH	9:1
49-51	AcOEt/MeOH	7:3
52-54	AcOEt/MeOH	1:1
55-56	MeOH	100

A partir de las fracciones 25 y 26 eluidas con AcOEt-Hexano (6:4), se obtuvieron 321.2 mg de un sólido (A) color crema con p.f. de 170-175°C, el cual se trató de purificar por medio de precipitaciones sucesivas con mezcla de Hexano-AcOEt sin éxito. El espectro de infrarrojo (IR) de A reveló la presencia de grupos hidroxilos (espectro 1 del anexo), por lo que se procedió a realizar una reacción de acetilación, utilizando 100 mg de A, 1 mL de piridina y 1 mL de anhídrido acético. Tomando en cuenta que en CCF de la mezcla de reacción (MRA) de A mostró la presencia de cuatro compuestos, se decidió someter a MRA a un proceso de separación por medio de CC. Se colectaron 47 fracciones de 15 mL cada una (Cuadro 5).

Cuadro 4. Fracciones obtenidas de la cromatografía de la mezcla de reacción de acetilación (MRA) del producto A, proveniente del extracto de acetato de etilo de hojas de *Oncidium sphacelatum*.

Fracción	Disolvente	Proporción (%)
1-2	Hexano	100
3-4	Hexano/AcOEt	9:1
5-12	Hexano/AcOEt	8:2
13-32	Hexano/AcOEt	7:3
33-37	Hexano/AcOEt	6:4
38-41	AcOEt/Hexano	6:4
42-45	AcOEt	100
46-47	MeOH	100

La CC de MRA permitió el aislamiento de 55.4 mg del acetato de una flavanona identificada como 5,6-diacetato-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona (espectros 2-5 del anexo) (Fig. 22), la cual se aisló de las fracciones 19-26 eluidas con Hexano/AcOEt (7:3), y que presentó un p.f. de 130 a 135°C. El rendimiento de reacción fue del 55.4%, calculado a partir de la cantidad total de compuesto a reaccionar.

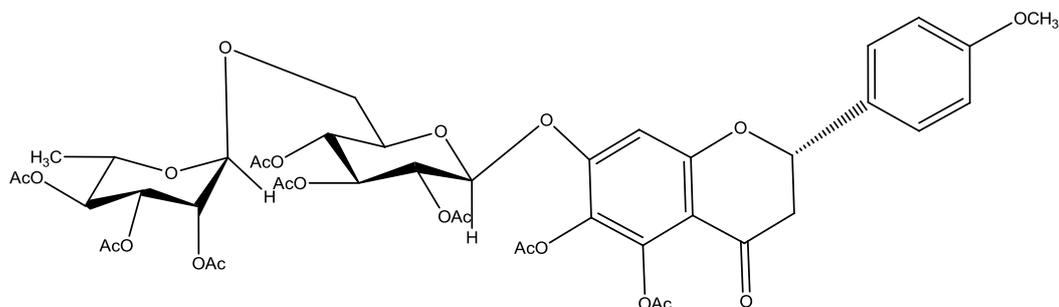


Figura 22. Estructura química de 5,6-diacetato-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona, aislada del extracto de acetato etilo de hojas de *Oncidium sphacelatum*.

8.2.2 Extracto metanólico

8.2.2.1 Fracción de acetato de etilo del extracto metanólico (FAM)

La separación de los componentes del extracto FAM, se realizó por medio de CC abierta, fueron separados 3.14 g de extracto, se colectaron un total de 77 fracciones de 250 mL cada una (Cuadro 5).

Cuadro 5. Fracciones obtenidas de la cromatografía del extracto FAM de hojas de *Oncidium sphacelatum*.

Fracción	Disolvente	Proporción (%)
1-4	Hexano	100
5-9	Hexano/AcOEt	9:1
10-17	Hexano/AcOEt	8:2
18-27	Hexano/AcOEt	7:3
28-31	Hexano/AcOEt	6:4
32-36	Hexano/AcOEt	1:1
37-41	AcOEt/Hexano	6:4
42-45	AcOEt/Hexano	7:3
46-50	AcOEt/Hexano	8:2

51-55	AcOEt/Hexano	9:1
56-58	AcOEt	100
59-63	AcOEt/MeOH	9:1
64-67	AcOEt/MeOH	8:2
68-71	AcOEt/MeOH	7:3
72-73	AcOEt/MeOH	6:4
74-75	AcOEt/MeOH	1:1
76-77	MeOH	100

De este extracto se logró el aislamiento de 10 mg de un polvo amarillo con p.f. de 207-208°C, aislada de la fracción 10 eluida con Hexano/AcOEt (8:2). El análisis así como la comparación de los datos espectroscópicos de este compuesto (espectros 6-8 del anexo), con aquellos informados en la literatura aislada en la especie *Cirsium chanroenicum* (Compositae) (Lim *et al.*, 2008), permitieron su identificación como la flavona pectolarigenina (Fig. 23).

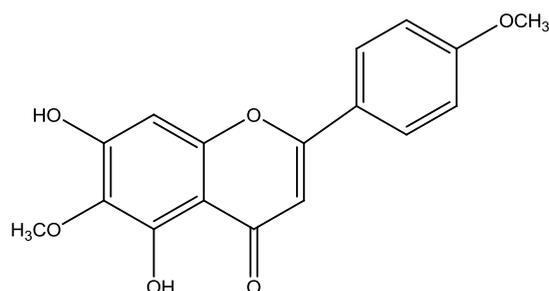


Figura 23. Estructura química de la flavona pectolarigenina, aislada del extracto FAM de hojas de *Oncidium sphacelatum*.

8.2.2.2 Fracción de metanol del extracto metanólico (FMM)

El extracto FMM (34.88 g) se sometió a CC. Se colectaron un total de 101 fracciones de 250 mL cada una (Cuadro 6).

Cuadro 6. Fracciones obtenidas de la cromatografía del extracto FMM de hojas de *Oncidium sphacelatum*.

Fracción	Disolvente	Proporción (%)
1-2	Hexano	100
3-5	Hexano/AcOEt	1:1
6-9	Hexano/AcOEt	1:2
10-15	Hexano/AcOEt	1:3

16-21	Hexano/AcOEt	1:4
22-37	AcOEt	100
38-46	AcOEt/MeOH	9:1
47-52	AcOEt/MeOH	8:2
53-65	AcOEt/MeOH	7:3
66-71	AcOEt/MeOH	6:4
72-76	AcOEt/MeOH	1:1
77-83	MeOH/AcOEt	6:4
84-86	MeOH/AcOEt	8:2
87-96	MeOH/AcOEt	9:1
97-101	MeOH	100

De las fracciones 55-59 eluidas con AcOEt/MeOH (7:3) se logró aislar 850.9 mg de sacarosa (Fig. 24), la cual fue identificada mediante la comparación de sus datos físicos y espectroscópicos (espectros 9 y 10 del anexo) con los informados en la literatura (Sánchez, 2009).

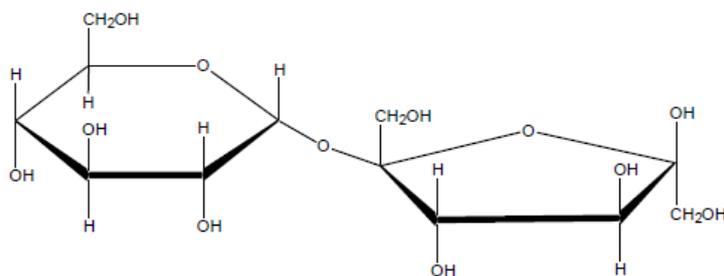


Figura 24. Estructura química de la sacarosa aislada del extracto FMM de hojas de *Oncidium sphacelatum*.

8.2.2.3 Fracción insoluble del extracto metanólico (FIM)

8.2.2.3.1 Reacción de acetilación

El extracto FIM es un polvo café oscuro con p.f. de 220 a 230°C, que presenta la característica de ser insoluble en disolventes orgánicos, debido a esto se realizó una reacción de acetilación utilizando 300 mg de extracto, 2 mL de piridina y 2 mL de anhídrido acético. El análisis mediante CCF, reveló la presencia de dos compuestos, por lo que se purificó mediante CC. Se colectaron 25 fracciones de 15 mL cada una (Cuadro 7).

Cuadro 7. Fracciones obtenidas de la cromatografía del producto acetilado del extracto FIM de hojas de *Oncidium sphacelatum*.

Fracción	Disolvente	Proporción (%)
1-8	Hexano/AcOEt	2:1
9-17	Hexano/AcOEt	1:1
18-21	Hexano/AcOEt	2:3
22-23	AcOEt	100
24-25	MeOH	100

A partir de las fracciones 10-11 eluidas con Hexano/AcOEt (1:1) se obtuvieron 111.3 mg de un polvo blanco con p.f. de 143-145°C. El rendimiento de la reacción fue del 37.1% el cual se cuantificó a partir de la cantidad total de extracto a reaccionar. El análisis así como la comparación de los datos espectroscópicos de este compuesto (espectros 11-15 del anexo), con aquellos informados en la literatura aislada en la especie *Cirsium chanroenicum* (Compositae) (Lim *et al.*, 2008), permitieron su identificación como el acetato del glicósido pectolarina (Fig. 25).

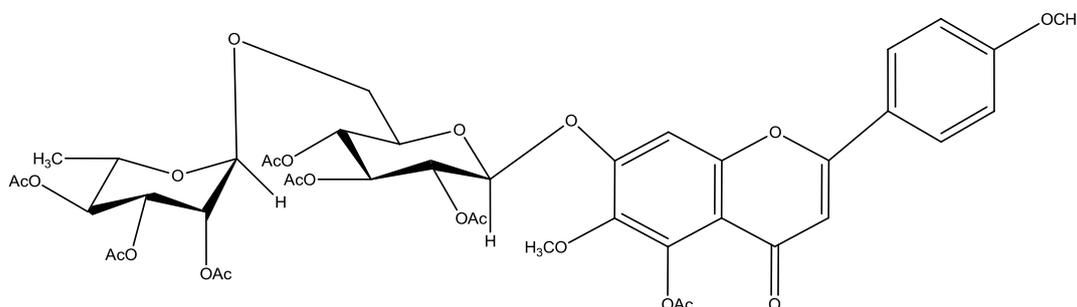


Figura 25. Estructura química del acetato de pectolarina, aislado del extracto FIM de hojas de *Oncidium sphacelatum*.

La pectolarina ha sido aislada a partir de hojas de la especie *Oncidium excavatum* con el nombre de pectolarigenina-7-rutinosido (7-rutinosido=7-ramnosil-(1→6)-glucosido) (Williams, 1979).

8.2.2.3.2 Reacción de hidrólisis

La reacción de hidrólisis del extracto FIM se realizó utilizando 1g de extracto, 2 mL de EtOH y 1 mL de HCl concentrado. Aunque el análisis cromatográfico por medio de CCF reveló un solo producto principal en la mezcla de reacción este se mostraba muy impuro, por lo que se purificó mediante CC. Se colectaron un total de 81 fracciones de 100 mL cada una (Cuadro 8).

Cuadro 8. Fracciones obtenidas de la cromatografía del producto de hidrólisis del extracto FIM de hojas de *Oncidium sphacelatum*.

Fracción	Disolvente	Proporción (%)
1-3	Hexano	100
4-34	Hexano/AcOEt	9:1
35-45	Hexano/AcOEt	8:2
46-54	Hexano/AcOEt	7:3
55-58	Hexano/AcOEt	6:4
59-61	Hexano/AcOEt	1:1
62-63	AcOEt/Hexano	7:3
64-67	AcOEt	100
68-71	AcOEt/MeOH	9:1
72-79	AcOEt/MeOH	1:1
80-81	MeOH	100

A partir de las fracciones 11-34 y 35-45 eluidas con Hexano/AcOEt (9:1) y Hexano/AcOEt (8:2) respectivamente se obtuvieron 91 mg y 84.2 mg respectivamente de la flavona pectolinarigenina (Fig. 23), la cual se identificó mediante la comparación en CCF con el compuesto puro aislado del extracto FAM. El total de compuesto aislado fue de 175.2 mg. El rendimiento de la reacción fue del 17.52 % el cual se cuantificó a partir de la cantidad total de extracto a reaccionar.

8.2.3 Extracto hidroalcohólico

8.2.3.1 Fracción de acetato de etilo del extracto hidroalcohólico (FAH)

La CC abierta del extracto FAH se realizó empleando 40.24 g de extracto, se colectaron un total de 157 fracciones de 250 mL cada una (Cuadro 9).

Cuadro 9. Fracciones obtenidas de la cromatografía del extracto FAH de hojas de *Oncidium sphacelatum*.

Fracción	Disolvente	Proporción (%)
1-5	Hexano	100
6-10	Hexano/AcOEt	9:1
11-17	Hexano/AcOEt	8:2
13-39	Hexano/AcOEt	7:3
40-44	Hexano/AcOEt	6:4
45-53	Hexano/AcOEt	1:1
54-72	AcOEt/Hexano	6:4
73-77	AcOEt/Hexano	7:3
78-82	AcOEt/Hexano	8:2
83-90	AcOEt/Hexano	9:1
91-94	AcOEt	100
95-103	AcOEt/MeOH	9:1
104-111	AcOEt/MeOH	8:2
112-118	AcOEt/MeOH	7:3
119-126	AcOEt/MeOH	6:4
127-132	AcOEt/MeOH	1:1
133-138	MeOH/AcOEt	6:4
139-144	MeOH/AcOEt	7:3
145-151	MeOH/AcOEt	8:2
152-155	MeOH/AcOEt	9:1
156-157	MeOH	100

De la fracción 10 eluida con Hexano/AcOEt (9:1) se obtuvieron 5 mg de un compuesto blanco con p.f. de 135-136°C identificado como β -sitosterol (espectro 16 del anexo) (Fig. 26), la identificación se realizó mediante la comparación de sus constantes físicas y espectroscópicas (RMN ^1H e IR), con las descritas en la literatura (Sánchez, 2009). Por otro

lado, de la fracción 25 eluida con Hexano/AcOEt (7:3) se aisló 50.8 mg de un polvo amarillo que al compararlo en CCF con el compuesto aislado del extracto FAM resulto ser la flavona pectolinarigenina (Fig. 23).

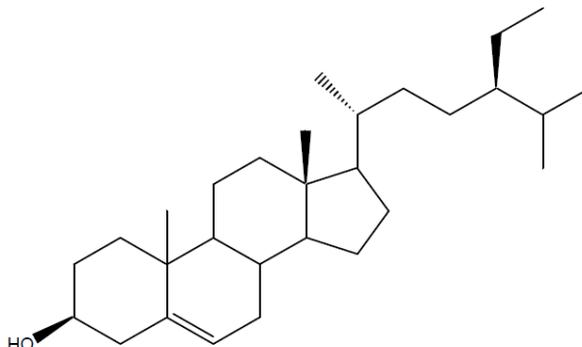


Figura 26. Estructura química del β -sitosterol aislado del extracto FAH de hojas de *Oncidium sphacelatum*.

Estudios previos indican que en algunas especies de los géneros *Maxillaria*, *Dendrobium*, *Blettia*, *Coelogyne*, *Cymbidium*, *Epidendrum*, y *Eria* de la familia Orchidaceae muestran presencia casi constante de metabolitos secundarios de tipo fenantreno (Kovacs *et al.*, 2008), sin embargo, nuestros resultados sobre la composición química de *Oncidium sphacelatum* señalaron que los metabolitos secundarios principales fueron de tipo flavonoide. Adicionalmente, también se aisló el β -sitosterol, el cual es un esteroide ampliamente distribuido en el reino vegetal. Este es el primer informe de la presencia de pectolinarigenina, sacarosa y β -sitosterol en *O. sphacelatum*. Mientras que la 5,6-diaceto-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona es un nuevo producto en la literatura.

8.3 Rendimiento compuestos puros

El rendimiento de los compuestos aislados se cuantificó como un porcentaje del total del extracto obtenido (AcOEt 6.63 g, FAM 3.14 g, FMM 34.88 g FIM 4.92 g y FAH 40.24 g). Del extracto FAH se obtuvo un mayor rendimiento; sin embargo, este no se vio reflejado en el rendimiento de los compuestos puros obtenidos a partir de éste, ya que, como se puede observar en el cuadro 10 el rendimiento por ejemplo de pectolinarigenina es menor que en el extracto FAM.

Cuadro 10. Rendimiento de los compuestos puros de los extractos orgánicos de hojas de *Oncidium sphacelatum*.

Extracto	Compuesto	mg	Rendimiento (%)
AcOEt	5,6-diacetato-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona	55.4	0.835
FAM	Pectolinarigenina	10	0.318
FMM	Sacarosa	850.9	2.439
FIM	Acetato de pectolinarina	111.3	2.262
	Pectolinarigenina	175.2	3.561
FAH	β -sitosterol	5	0.012
	Pectolinarigenina	50.8	0.126

8.4 Pruebas biológicas

8.4.1 Actividad antiinflamatoria de los extractos

En el modelo de actividad antiinflamatoria de edema inducido por TPA en oreja de ratón a la dosis de 0.31 mg/oreja (n=3) los extractos de hexano y acetato de etilo mostraron actividad significativa, sin embargo, el extracto FAM fue inactivo a esta dosis, como se muestra en el cuadro 11. Mientras que para la dosis de 1 mg/oreja (n=3) ninguno de los extractos evaluados presentó actividad antiinflamatoria significativa, en contraste los extractos hidroalcohólico y FMH presentaron actividad proinflamatoria.

Como se observa en el cuadro 11 la actividad antiinflamatoria fue mayor en los extractos de hexano y acetato de etilo. La actividad del extracto de acetato de etilo puede deberse probablemente a la presencia de la pectolinarigenina, compuesto de actividad antiinflamatoria ya probada (Lim *et al.*, 2008). Cabe señalar que para determinar qué metabolitos son los responsables de la actividad biológica del extracto de hexano, es necesario evaluar los compuestos puros. Los extractos FIM y FIH no se evaluaron debido a que son insolubles en disolventes orgánicos.

Cuadro 11. Actividad antiinflamatoria de los extractos de hojas de *Oncidium sphacelatum*. Los datos representan el promedio de tres animales \pm el error estándar de la media.

Extracto	Dosis (mg/oreja)	Inhibición (%)
Indometacina (Control positivo)	0.36	78.76
Hexano	0.31	27.76
Acetato de etilo	0.31	34.53
Metanol	1	14.46
FHM	1	11.17
FAM	0.31	12.81
FMM	1	5.67
Hidroalcohólico	1	-4.02
FAH	1	10.73
FMH	1	-11.94

8.4.2 Actividad antiinflamatoria de los compuestos puros

Los valores de la actividad antiinflamatoria de los compuestos puros, en el modelo de TPA en oreja de ratón (Cuadro 12) indican que el compuesto que presentó mejor actividad fue la 5,6-diacetato-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona con un 47.89% de inhibición a la dosis de 0.31 mg/oreja, mientras que el acetato de pectolarina presentó actividad proinflamatoria a la misma dosis.

Cuadro 12. Actividad antiinflamatoria de los compuestos puros aislados de extractos orgánicos de hojas de *Oncidium sphacelatum*. Los datos representan el promedio de tres animales \pm el error estándar de la media.

Compuesto	Dosis (mg/oreja)	Inhibición (%)
Indometacina (Control positivo)	0.36	78.76
5,6-diacetato-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona	0.31	47.89
Acetato de pectolarina	0.31	-4.63

El β -sitosterol no se evaluó en este modelo debido a que es un compuesto con actividad antiinflamatoria probada (Bulawa y Flemin, 2008; Wang *et al.*, 2006; Ahmad *et al.*, 2004).

Los compuestos pectolinarigenina y pectolinarina han sido evaluados en modelos *in vivo*, los resultados demostraron que la administración oral de estos compuesto a una dosis de 20-100 mg/kg son similares comparados con modelos animales de inflamación como el edema inducido por TPA en oreja de ratón o el edema inducido por carragenina en la pata de ratón y la anafilaxia pasiva cutánea. Estos resultados sugieren que la pectolinarigenina y pectolinarina poseen actividad antiinflamatoria y que pueden inhibir la formación de eicosanoides de las lesiones inflamatorias (Lim *et al.*, 2008).

8.4.3 Actividad citotóxica de los extractos

La evaluación de la actividad citotóxica de los extractos, se realizó mediante el ensayo de SRB. Los resultados mostraron que los extractos que inhibieron el crecimiento celular en 6 líneas de cáncer humano a una concentración de 50 µg/mL fueron el extracto de acetato de etilo, el extracto metanólico, la fracción de acetato de etilo del extracto metanólico (FAM) y la fracción de acetato de etilo del extracto hidroalcohólico (FAH) (Cuadro 13).

Cuadro 13. Actividad citotóxica de extractos orgánicos de hojas de *Oncidium sphecelatum*.

Extracto	Inhibición del crecimiento celular (%)					
	Línea celular					
	U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
Doxorrubicina (Control positivo)	100	100	100	100	100	100
Hexano	s.a.	s.a.	s.a.	12.77	19.18	21.68
Acetato de etilo	16.24	50.23	8.22	43.56	27.54	44.33
Metanol	7.94	22.8	53.96	25.48	39.18	29.12
FHM	s.a.	s.a.	s.a.	18.25	47.95	s.a.
FAM	12.97	49.23	-	84.81	64.33	25.9
FMM	24.26	16.43	12.95	s.a.	2.69	s.a.
Hidroalcohólico	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
FAH	s.a.	8.27	-	58.75	39.18	11.22
FMH	s.a.	s.a.	s.a.	48.98	17.5	s.a.

U251=glía de sistema nervioso central, PC-3=próstata, K562=leucemia, HCT-15=colon, MCF-7=mama, SKLU-1=pulmón, s.a.=sin actividad.

En el cuadro 13 se observa que los extractos de acetato de etilo y metanólico mostraron buena actividad citotóxica sobre las líneas PC-3 con una inhibición de 50.23% y K562 con

una inhibición de 53.96%. El extracto con mayor actividad citotóxica fue el extracto FAM con porcentajes de inhibición de 64.33 y 84.81% en las líneas MCF-7 y HCT-15 respectivamente, probablemente esto se deba a la presencia de la pectolinarigenina ya que como compuesto puro fue citotóxico (Cuadro 14).

El extracto FAH fue uno de los extractos que presentó mayor actividad con un 58.75% de inhibición sobre la línea HCT-15, β -sitosterol es uno de los metabolitos aislados de este extracto, el cual posee probada actividad citotóxica (Nguyen *et al.*, 2004; Keng-Chia *et al.*, 2003), por lo que es probable que la actividad citotóxica se deba a la presencia de este compuesto. Por otra parte también pectolinarigenina podría estar contribuyendo a la actividad citotóxica del extracto ya que como compuesto puro fue citotóxico (Cuadro 14).

8.4.4 Actividad citotóxica de los compuestos puros

La evaluación de la actividad citotóxica de los compuestos puros se llevó a cabo sobre 5 líneas de cáncer humano a una concentración de 50 μ M/mL. Como se observa en el cuadro 15, la pectolinarigenina presentó buena actividad sobre todas las líneas evaluadas con valores entre 56.95 y 99.24% de inhibición, el acetato de pectolinarina presentó buena actividad sobre las líneas HCT-15 y MCF-7, mientras que la 5,6-diacetato-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona sólo fue activa sobre la línea MCF-7.

Cuadro 14. Actividad citotóxica de compuestos puros aislados de extractos orgánicos de hojas de *Oncidium sphacelatum*.

Compuesto	Inhibición del crecimiento celular (%)				
	Línea celular				
	U251	PC-3	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
Doxorrubicina (Control positivo)	100	100	100	100	100
5,6-diacetato-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona	29	44.93	34.2	56.1	39.3
Pectolinarigenina	56.95	55.38	99.24	72.92	87.61
Acetato de pectolinarina	40.59	35.85	74.9	56.64	22.63

U251=glía de sistema nervioso central, PC-3=próstata, HCT-15=colon, MCF-7=mama, SKLU-1=pulmón, s.a.=sin actividad.

Como se esperaba la actividad citotóxica de la pectolinarigenina fue muy alta, lo que concuerda con lo informado en la literatura sobre su acción biológica contra algunas líneas celulares de cáncer (Tundis *et al.*, 2005 y Bonesi *et al.*, 2008). Además también ha demostrado tener actividad hepatoprotectora así como su glicósido la pectolinarina, ambas fueron evaluadas sobre un modelo de rata de lesión hepática causada por la D-galactosamida (GaIL) (Yoo *et al.*, 2008).

IX. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados se puede concluir que:

- Los extractos orgánicos de hojas de *Oncidium sphacelatum* presentan metabolitos secundarios principalmente de tipo flavonoide.
- En el extracto de AcOEt el MS mayoritario fue 5,6-diacetato-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona.
- En el extracto FAM el MS mayoritario fue pectolinarigenina.
- En el extracto FMM sacarosa fue el producto mayoritario.
- En el extracto FIM los MS mayoritarios fueron pectolinarigenina y acetato de pectolinarina.
- En el extracto FAH los MS mayoritarios fueron β -sitosterol y pectolinarigenina.
- Se informa por primera vez para el género la presencia de pectolinarigenina, β -sitosterol y sacarosa.
- La 5,6-diacetato-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona constituye una nueva molécula en la literatura.
- Los extractos hexánico y AcOEt de hojas de *Oncidium sphacelatum* poseen actividad antiinflamatoria significativa.
- Los extractos hidroalcohólico y FMH poseen actividad proinflamatoria.
- La 5,6-diacetato-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona posee actividad antiinflamatoria significativa.
- El acetato de pectolinarina presentó actividad proinflamatoria.
- Los extractos de AcOEt, metanólico, FAM y FAH y los compuestos 5,6-diacetato-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona, pectolinarigenina y acetato de pectolinarina poseen actividad citotóxica significativa.

X. LITERATURA CITADA

- Ahmad, F., Lau, L. C., Ali, R. M. and Kean, O. B. 2004. Anti-inflammatory activity of camaric acid from *Lantana camara*. *Current topics in Phytochemistry*. **6**:131-136.
- Alemán, S., Riviera, L., Castillo, E., Villalobos, M., Vergara, G. and Estrada, S. 2007. Determinación del efecto vasorrelajante de los extractos diclorometánico y metanólico de la especie *Oncidium pachyphyllum* (Orchidaceae). *Revista Latinoamericana de Química*. **35**:141.
- Anaya, M.L. 2003. Ecología Química. Plaza y Valdez. pp 38 y 39.
- Bai, L., Masukawa, N., Yamaki, M. and Takagi, S. 1997. Two bibenzyl glucosides from *Pleione bulbocodioides*. *Phytochemistry*. **44**:1565-1567.
- Bai, L., Yamaki, M., and Takagi, S. 1996. Stilbenoids from *Pleione bulbocodioides*. *Phytochemistry*. **42**:853-856.
- Balandrin, M. F., Klocke, J. A., Wurtele, E. S. and Bollinger, W. H. 1985. Natural plant chemicals: sources of industrial and medical herbs. *Science*. **228**:1154-1160.
- Bauman, J., Bruchhausen, F. V. and Wurm, G. 1982. Flavonoids and arachidonic acid metabolism. Flavonoids and bioflavonoids. *Studies in Organic Chemistry* 11. Elsevier. Oxford. pp. 411-419.
- Bermúdez, A., Oliveira, M. M. A. y Velázquez, D. 2005. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus enfoques actuales. *Interciencia*. **30**:453-459.
- Bonesi, M., Tundis, R., Deguin, B., Loizzo, M. R., Menichini, F., Tillequin, F. and Menichini, F. 2008. *In vitro* biological evaluation of novel 7-O-dialkylaminoalkyl cytotoxic pectolinarigenin derivatives against a panel of human cancer cell lines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **18**:5431-5434.
- Bulawa, C. and Flemin, J. 2008. Compounds and methods for modulating protein trafficking. *PCT Int. Appl.* 97 pp.
- Calabresi, P. and Chabner, B. A. Sección X: Quimioterapia de las enfermedades neoplásicas en Hardman, J. G.; Limbird, L. E.; Molinoff, P. B.; Ruddon, R. W.; Goodman & Gilman, A. 1996. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Mc-Graw Hill Interamericana. 9ª ed. Vol II. pp. 1309-1358.
- Carballo, M. A., Cortada, C. M. y Gadano, A. B. 2005. Riesgos y beneficios en el consumo de plantas medicinales. *Theoria*. **14**:95-108.

-
- Céspedes, A. C. L. A. y Salazar, J. R. Capítulo III. Los flavonoides en el Instituto de Química, una relación histórica en Romo de Vivar, R. A. 2006. Química de la Flora Mexicana. Investigaciones en el Instituto de Química, UNAM. Sociedad Química de México. pp. 63-88.
 - Chabner, B. A. and Roberts, T. J. Jr. 2005. Chemotherapy and the war on cancer. *Nature Reviews*. **5**:65-72.
 - Chase, M. W. y Palmer, J. D. 1992. Floral morphology and chromosome number in subtribe Oncidiinae (Orchidaceae); evolutionary insights from a phylogenetic análisis of chloroplast DNA restriction site variation (14). In Soltis and Doyle (eds.). *Molecular Systematics in Plants*. Chapman and Hall.
 - Chen, Y., Li, Y., Qing, C., Zhang, Y., Wang, L. and Liu, Y. 2008. 1,4,5-Trihydroxy-7-methoxy-9H-fluoren-9-one, a new cytotoxic compound from *Dendrobium chrysotoxum*. *Food Chemistry*. **108**:973-976.
 - Cotton, C. M. 1996. Ethnobotany. Principles and applications. John Wiley & Sons. pp. 33-36.
 - Coussens, L.M. and Werb, Z. 2002. Inflammation and cancer. *Journal of Nature*. **420**: 860-867.
 - Cragg, G. M. and Newman, D. J. 2005. Plants as source of anti-cancer agents. *Journal of Ethnopharmacology*. En prensa.
 - Davies, K. M. 2003. Transcriptional regulation of secondary metabolism. *Functional Plant Biology*. **30**:913-925.
 - Della, L. R., Tubaro, A., Sosa, S., Becker, H. and Saar, St. I. 1994. *Planta Medica*. **60**:516.
 - Domínguez, X. 1973. Métodos de investigación fitoquímica. México. Limusa. p. 67.
 - Dressler, L. R. 1981. The orchis. Natural history and classification. Harvard University press. London. pp. 50-159.
 - Dressler, L. R. 1993. Phylogeny and classification of the Orchid family. Discorides Press. pp. 13-57.
 - Estrada, S., López-Guerrero, J. J., Villalobos-Molina, R. and Mata, R. 2004. Spasmolytic stilbenoids from *Maxillaria densa*. *Fitoterapia*; **75**:690-695.
 - Estrada, S., Rojas, A., Mathison, Y., Israel, A. and Mata, R. 1999. Nitric oxide/cGMP mediates the spasmolytic action of 3,4'-dihydroxy-5,5'-dimethoxybibenzyl from *Scaphyglottis lívida*. *Planta Medica*. **65**(2):109-14.

-
- Flores-Rosete, G. and Martínez-Vázquez, M. 2008. Anti-inflammatory and cytotoxic cycloartanes from Guayule (*Parthenium argentatum*). *Natural Product Communications*. **33**:413-422.
 - Gijón, B. J. y De Miguel, M. E. 1997. Inflamación y dolor: conceptos básicos. Grupo aula medica. pp. 1, 16, 18.
 - Hágsater, E., Soto, M., Salazar, G., Jiménez, R., López, M. y Dressler, R. 2005. Las Orquídeas de México. Laboratorios Chinoin. pp. 39-71.
 - Hardman, J. G.; Limbird, L. E.; Molinoff, P. B.; Ruddon, R. W.; Goodman & Gilman, A. 1996. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Mc-Graw Hill Interamericana. 9ª ed. Vol II.
 - Hartwell J. L. 1982. Plants used against cancer. *Quarterman Lawrens M.A. Publications*. **35**:329.
 - Hausen, B. M. 1984. Toxic and allergenic Orchids. In: Orchid Biology Reviews and Perspectives III. *Cornell University Press*. **6**:262-282.
 - Hersch-Martínez, P. 1995. Commercialization of wild medicinal plants from southwest Puebla, Mexico. *Economic Botany* **49**(2):197-206.
 - Hietz, P. y Hietz-Seifert, V. 1994. Epifitas de Veracruz. Guía ilustrada para las regiones de Xalapa y los Tuxtlas, Veracruz. Instituto de Ecología A. C.
 - Hollman, P. C. H. and Katan, M. B. 1998. Absorption, metabolism and bioavailability of flavonoids. *Flavonoids in health and disease*. **7**:483-522.
 - Houghton, P., Fang, R., Techatanawat, I., Steventon, G., Hylands, P. and Lee, C. C. 2007. The sulphorhodamine (SRB) assay and other approaches to testing plants extracts and derived compounds for activities related to reputed anticancer activity. *Methods*. **42**:377-387.
 - INEGI. 2007. “Estadística a propósito del día mundial contra el cáncer”. Datos nacionales. México. D. F. 4 de febrero de 2009. En línea <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/aPropositom.asp?s=inegi&c=2676&ep=8> (julio, 2009).
 - Instituto Mexicano del Seguro Social. 2008. ¿Qué es el cáncer? En línea <http://www.imss.gob.mx/salud/Cancer/quescancer.htm> (julio, 2009).
 - Instituto Nacional del Cáncer. 2007. Explicación básica de lo que es el cáncer. En línea <http://www.cancer.gov/espanol/cancer/que-es/explicacion-basica> (junio, 2009).

-
- Jiménez, M. R. 2008. Una revisión del género *Oncidium* Sw. (Orchidaceae) en México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM. México D.F. pp. 209-215.
 - Keng-Chia, C. D., Chang-Yih, C., Ih-Sheng, T. and Ian-Lih, A. 2003. A cytotoxic butenolide, two new dolabellane diterpenoids, a chroman and a benzoquinol derivate from Formosan *Casaria membranacea*. *Planta Medica*. **69**(7):667-672.
 - Kikuchi, T., Kadota, S., Suehara, H. and Shima, T. 1985a. Studies on the constituents of Orchidaceous plants II. Isolation, structures and stereochemistry of ciclonevnilol, cyclohomonervilol and dihydrocycloeucalenol C-24 epimers, new triterpenes from *Nervilia purpurea* Schlechter. *Chemistry Pharmacology Bull.* **33**:1914-1929.
 - Kikuchi, T., Kadota, S., Suehara, H. and Shima, T. 1985b. Studies on the constituents of Orchidaceous plants III. Isolation of non-conventional side chain sterols from *Nervilia purpurea* Schlechter and structure determination of nervisterol. *Chemistry Pharmacology Bull.* **33**(6):2235-2242.
 - Kong, J. M., Goh, N. K., Chia, L. S. y Chia, T. F. 2003. Recents advances in traditional plants drugs and orchids. *Acta Pharmacol. Sin.* **24**:7-21.
 - Kovás, A., Vasas, A. and Hohmann, J. 2008. Natural phenanthrenes and their biological activity. *Phytochemistry*. **69**:1084-1110.
 - Kuklinski, C. 2003. Farmacognosia, estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Omega. Barcelona. pp. 51-53.
 - Lara, O. B. y Márquez, C. 1996. Plantas medicinales de México, composición, usos y actividad biológica. Universidad Nacional Autónoma de México. México. pp.7-8
 - Lie-Fen, S., Chih-Huai, C., Chiu-Ping, L., Sheng-Yang, W., Pei-Ling, K., Jane, S., Allen, C., Chi-Meng, T. and Ning-Sun, Y. 2004. Induction of apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells by phytochemicals from *Anoectochilus formosanus*. *Journal Biomedic Sciences*. **11**:928-939.
 - Lim, H., Son, K. H., Chang, H. W., Bae, K., Kang, S. S. and Kim, H. P. 2008. Anti-inflammatory activity of pectolinarigenin and pectolinarin isolated from *Cirsium chanroenicum*. *Biology Pharmacology Bull.* **3**(11):2063-2067.
 - Malcom, R. A. 2001. Cancer. Encyclopedia of life sciences. John Wiley & sons. LTD. www. els. net.
 - Mann, J. 2002. Natural products in cancer chemotherapy: past, present and future. *Nature Reviews*. **2**:143-148.

-
- Mantell, S. H., Mathews, J. A. y Mc.Kee, R. A. 1985. Principles of plant Biotechnology: Introduction to Genetic. Engineering in plants. Blackwell scientific. Publications. Oxford. Gran Bretaña.
 - Mata, E. R. y Rivero, C. J. 2000. Curso teórico de farmacognosia. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. Mayo. México D. F. pp. 140.
 - Merlos, M., Gómez, L. A., Giral, M., Vencat, L., García, R. J. and From, J. 1991. Effects of PPF-antagonist in mouse ear edema induced by several inflammatory agents. *British Journal of Pharmacology*. **104**:990-994.
 - Michel, F., Merckklein, L., Rey, R. and Crastes de Paulet, A. 1985. Comparative effects of some flavonoides on cyclooxygenase and lipoxigenase activities in different cell systems or subfractions. *Studies in Organic Chemistry* 23. Flavonoids and biflavonoids. Farkas, L., Gábor, M. and Kallay, F. Elseiver. Oxford. pp. 389-401.
 - Middleton, E. and Kandaswami, C. 1994. The impact of plant flavonoides on mammalian biology: implications for immunity and cancer. The flavonoides: Advances in research since 1986. Harbone, J. B., Chapman & Hall. London. pp. 619-552.
 - Miyazawa, M., Shimamura, H., Nakamura, S. and Kameoka, H. 1997. Antimutagenic activity of gigantol from *Dendrobium nobile*. *Journal Agriculture Food Chemistry*. **45**:2849-2853.
 - Monks, A., Scudeiro, D., Skehan, P., Schoemaker, R., Paul, K., Vistica, D., Hose, C., Langley, J., Cronise, P., Vaigro-Wolff, A., Gray-Goodrich, M., Campbell, H., Mayo, J. and Boyd, M. 1991. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *Journal of National Cancer Institute*. **33**(11):757-766.
 - Muller, W.A., 2002. Leukocyte-endothelial cell interactions in the inflammatory response. *Lab.Invest*. **82**:521-533.
 - Mycek, M. J., Harvey, R. A. y Champe, P. C. 2004. Farmacología. 2^{da} edición. Mc Graw-Hill Interamericana. México. pp. 594.
 - Nageswara, R. A. 2004. Medicinal orchids wealth of arunachal Pradesh. *Indian Medicinal Plants of Conservation Concern*. **1**:1-5.
 - Nathan, C. 2002. Points of controls in inflammation. *Nature*. **420**:846-852.
 - Nguyen, A. T., Malonneb, H., Dueza, P., Vanhaelen-Fastrea, R., Venhaelena, M. and Fontaineb, J. 2004. Cytotoxic constituents from *Plumbago zeylanica*. *Fitoterapia*. **75**:500-504.

-
- Noda, N., Kobayashi, Y., Miyahara, K. and Fukahori, S. 1995. 2,4-Bis(4-hidroxybenzil) phenol from *Gastrodia elata*. *Phytochemistry*. **30**:1247-1248.
 - Ocegueda, S., Moreno, E. y Koleff, P. 2005. Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. CONABIO. *Biodiversitas*. **62**:12-15.
 - Onaka, T., Kamata, S., Maeda, T., Kawazoe, Y., Natsume, M., Okamoto, T., Uchimaru, F. and Shimizu, M. 1965. The structure of Nobilonine. The second alkaloid from *Dendrobium nobile*. *Chemistry Pharmacology Bull.* **13**:745-747.
 - Organización Mundial de la Salud. 2009. Cáncer. En línea <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/index.html> (julio, 2009).
 - Organización Mundial de la Salud. 2009. Medicina tradicional. En línea <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/es/index.html> (julio, 2009).
 - Parra, H., Compadre, M. C., Ramírez, A. T., Muñoz, F., Ostrosky-Wegman, P. and Martínez, M. Cáncer. 2006. *Bioorg. And Med. Chem. Lett.* **14**:1889-1901.
 - Pathak, D., Pathak, K. and Singla, A. K. 1991. Flavonoids as medicinal agents-Recent advances. *Fitoterapia*. **LXII**:371-389.
 - Peña, L. M. 1990. Some examples of economically important plant secondary metabolites. In: Production of secondary metabolites from plant. Tissue Culture and its Biotechnological Perspectives Loyola-Vargas, V. M. y CICY. Yucatán, México. pp. 225-241.
 - Pérez, G. R. M. and Vargas, S. R. 2009. Relaxant and antispasmodic effects of extracts of the orchid *Encyclia michuacana* on isolated guinea pig ileum. *Journal Natural Medic.* **63**:65-68.
 - Romo de Vivar, R. A. 2006. Química de la Flora Mexicana. Investigaciones en el Instituto de Química, UNAM. Sociedad Química de México.
 - Sánchez, R., A. 2009. Fitoquímica y evaluación de la actividad citotóxica y antiinflamatoria de extractos y compuestos aislados de semillas de *Casimiroa greggii* (Watson) Chiang. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM. México D.F. pp. 42-54.
 - Stermitz, F. R., Suess, T. R., Schauer, C. K., Anderson, O. P. and Bye, R. A. Jr. 1983. New and old phenanthrene derivatives from *Oncidium cebolleta*, peyote-replacement plant. *Journal of Natural Products*. **46**(3):417-423.
 - Stoessl, A. and Arditti, J. 1984. Orchid phytoalexins. En: Orchid biology reviews and perspectives II. *Cornell University Press*. **3**:152-175.

-
- Tatsuzawa, F., Saito, N., Seki, H., Hara, R., Yokoi, M. and Honda, T. 1997. Acylated cyanidin glycosides in the red-purple flowers of *Phalaenopsis*. *Phytochemistry*. 173-177.
 - Tundis, R., Deguin, B., Loizzo, M. R., Bonesi, M., Statti, G. A., Tillequin, F. and Menichini, F. 2005. Potential antitumor agents: Flavones and their derivatives from *Linaria reflexa* Desf. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **15**:4757-4760.
 - Vergara-Galicia, J. Ortiz-Andrade, R., Castillo-España P., Ibarra-Barajas, M., Gallardo-Ortiz, I., Villalobos-Molina, R. and Estrada-Soto, S. 2008. Antihypertensive and vasorelaxant activities of *Laelia autumnalis* are mainly through calcium channel blockade. *Vascular Pharmacology*. **49**:26-31.
 - Williams, C. A. 1979. The leaf flavonoides of the Orchidaceae. *Phytochemistry*. **18**:803-813.
 - Wu, Ch. R., Itsich, M. T., Huang, S. Ch., Peng, W. H., Chang, Y. S. and Chen, Ch. F. 1996. Effects of *Gastrodia elata* and its active constituents on scopolamine induced amnesia in rats. *Planta Medica*. **62**:317-321.
 - Yoo, T. M., Nam, J. H., Kim, M. Y., Choi, J. and Park, H. J. 2008. Pectolinarin and pectolinarigenin of *Cirsium setidens* prevent the hepatic injury in rats caused by D-galactosamine via an antioxidant mechanism. *Biol. Pharm. Bull.* **31**(4):760-764.
 - Zimmermann, A. and Dougloud, R. C. 1959. Orchidées Exotiques. Deelachaux. Neuchatel. Beutes de la nature.

XI. ANEXO

11.1 Propiedades físicas y espectroscópicas de los compuestos puros.

5,6-diacetato-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona:

C₄₄H₅₀O₂₃, sólido blanco (55.4 mg), P.M.: 946.27 g/mol, p.f: 130-135 °C.

IR (KBr): 3471.99, 2945.14, 1751.29, 1695.63, 1650.60, 1606.60, 1517.48, 1430.71, 1372.05, 1336.21, 1226.03, 1188.08, 1138.08, 1038.86, 955.47, 914.97, 835.08, 660.11. 600.67, 539.99, 492.46, 407.95 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS) δ: 4.47 (1H, dd, H-2), 2.71 (1H, dd, H-3cis), 3.35 (1H, dd, H-3trans), 2.37 (3H, s, COOCH₃-5) 2.34 (3H, s, COOCH₃-6) 6.56 (1H, s, H-8), 7.49 (1H, d, H-2'), 7.03 (1H, d, H-3'), 3.88 (3H, s, OCH₃-4'), 7.03 (1H, d, H-5'), 7.49 (1H, d, H-6'), 6.35 (1H, d, H-glu-1''), 5.57 (1H, d, H-glu-1''), 0.83 (3H, s, CH₃-ram-5'''), 3.75 (2H, d, CH₂-glu), 2.15 (3H, s, COOCH₃-glu-2'', glu-3'', glu-4'', ram-2''', ram-3''', ram-4''') ppm.

RMN ¹³C (125.71 MHz, CDCl₃) δ: 81.07 (C-2), 45.36 (C-3), 189.95 (C-4), 151.79 (C-5), 116.80 (C-6), 161.98 (C-7), 96.82 (C-8), 154.96 (C-9), 113.37 (C-10), 129.62 (C-1'), 128.28 (C-2'), 114.55 (C-3'), 160.41 (C-4'), 55.36 (OCH₃-4'), 114.55 (C-5'), 128.28 (C-6'), 20.67 (CH₃-5,6), 168.23 (C=O-5), 167.92 (C=O-6), 17.81 (CH₃-ram-5'''), 61.97 (CH₂-glu-5''), 112.46 (glu-1''), 68.46 (glu-2''), 74.08 (glu-3''), 67.83 (glu-4''), 76.89 (glu-5''), 112.46 (ram-1'''), 70.46 (ram-2'''), 66.69 (ram-3'''), 71.20 (ram-4'''), 72.98 (ram-5''') ppm.

β-sitosterol:

C₂₉H₅₀O, sólido blanco (5 mg), P.M.: 414, p.f.: 135-136°C.

IR (KBr): 3420, 2934, 2858, 1646, 1461, 1376, 1057, 959, 802 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS) δ: 0.685 (3H, s, CH₃-18), 0.809 (3H, d, J=7.0 Hz, CH₃-27), 0.830 (3H, d, J=7.0 Hz, CH₃-26), 0.851 (3H, t, J=7.0 Hz, CH₃-29), 1.014 (3H, d, J=6.6 Hz, CH₃-21), 1.527 (3H, s, CH₃-19), 3.530 (1H, m, H-3a), 5.360 (1H, d br, J=5.3 Hz, H-6) ppm.

Sacarosa:

C₁₂H₂₂O₁₁, cristales transparentes (850.9 mg), P. M.: 370, p.f.: 170-176°C.

IR (KBr): 3562.91, 3388.60, 3336.75, 2969.60, 2938.96, 2723.03, 1464.97, 1433.76, 1370.84, 1347.06, 1322.70, 1279.44, 1207.96, 1126.87, 1069.24, 993.28, 913.78, 865.70, 728, 685.89, 641.82, 585.93, 549.34, 470.87, 402.49 cm⁻¹.

Pectolarigenina:

C₁₇H₁₄O₆, cristales amarillos (155.6 mg), P. M.: 314.29, p.f.: 207-208°C.

IR (KBr): 3455.53, 3079.01, 2992.77, 2959.40, 2848.18, 1663.02, 1626.70, 1586.62, 1506.89, 1468.22, 1421.60, 1376.59, 1303.55, 1267.33, 1243.39, 1216.88, 1168.86, 1105.16, 1024.02, 980.55, 915.68, 877.93, 828.81, 770.80, 730.41, 692.75, 656.07, 632.95, 594.86, 565.44, 509.89, 423.26 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS) δ: 3.890, 4.043 (3H, s, OCH₃), 6.565 (1H, s, H-8), 6.586 (1H, s, H-3), 7.04 (2H, d, *J*=9.0 Hz, H-3', 5'), 7.855 (2H, d, *J*=9.0 Hz, H-2', 6'), 13.2 (1H, s, 5-OH) ppm.

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 164.157 (C-2), 103.783 (C-3), 182.957 (C-3), 152.139 (C-5), 130.354 (C-6), 154.984 (C-7), 93.317 (C-8), 153.153 (C-9), 105.753 (C-10), 123.601 (C1'), 128.047 (C-2', 6'), 114.535 (C-3',5'), 162.652 (C-4'), 60.847 (OCH₃), 55.519 (OCH₃) ppm.

Acetato de pectolarigenina:

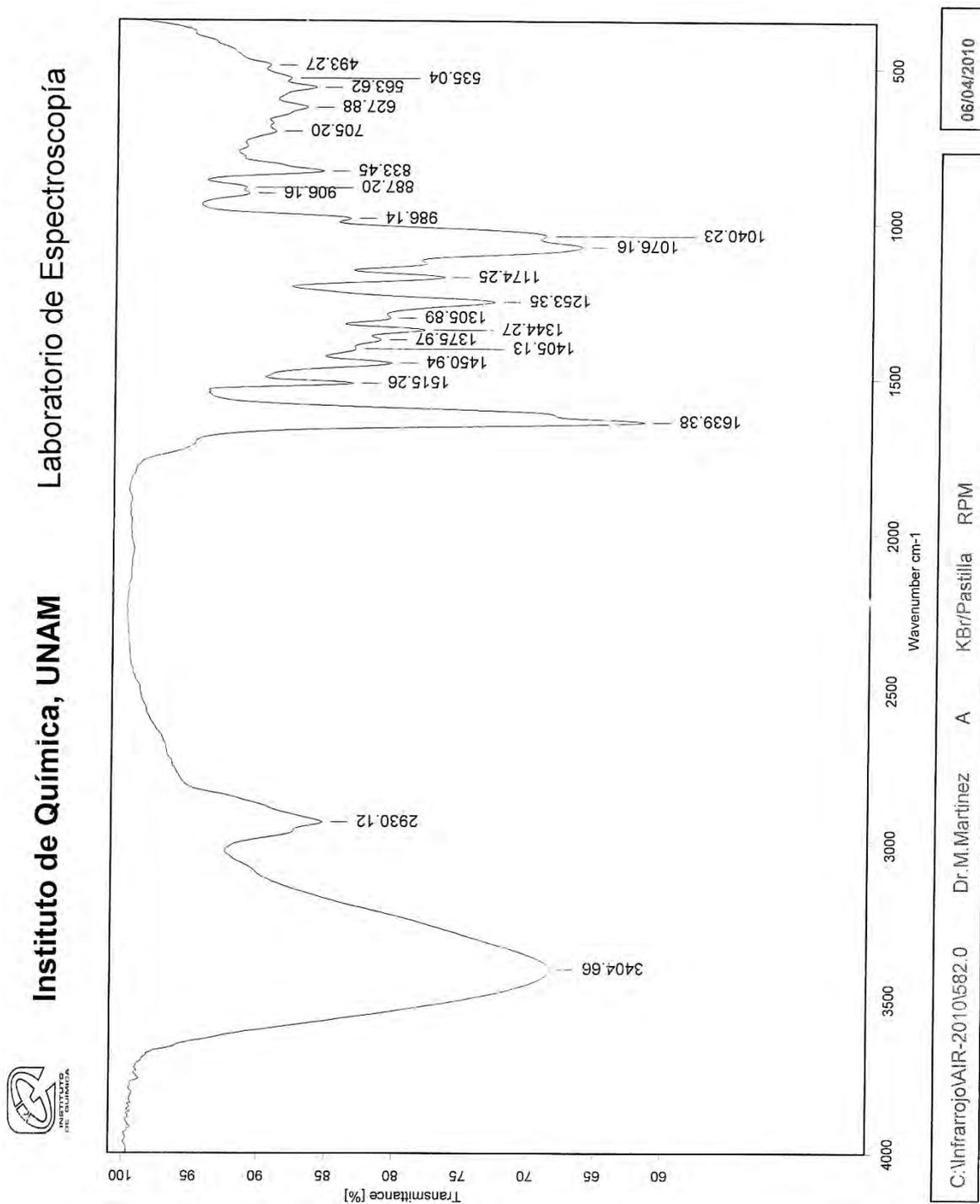
C₄₃H₄₈O₂₂, sólido blanco (111.3 mg), P. M.: 916.26 g/mol, p.f.: 143-145°C.

IR (KBr): 3632.27, 3488.45, 2944.63, 1755.07, 1642.15, 1609.82, 1572.60, 1513.17, 1460.18, 1430.18, 1370.00, 1301.71, 1248.66, 1220.66, 1125.38, 1040.49, 986.15, 909.99, 838.11, 792.65, 694.83, 600.41, 492.42 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS) δ: 6.58 (1H, s, H-3), 2.09 (3H, s, COOCH₃-5), 3.85 (3H, s, OCH₃-6), 6.56 (1H, s, H-8), 7.78 (1H, dd, H-2'), 7.00 (1H, dd, H-3'), 3.83 (3H, s, OCH₃-4'), 7.00 (1H, dd, H-5'), 7.78 (1H, dd, H-6'), 6.63 (1H, d, H-glu-1''), 3.74 (2H, d, CH₂-glu), 5.32 (1H, d, H-ram-1'''), 1.10 (3H, s, CH₃-ram-5''') ppm.

RMN ^{13}C (125.71 MHz, CDCl_3) δ : 163.02 (C-2), 98.01 (C-3), 176.50 (C-4), 142.58 (C-5), 20.58 (COOCH_3 -5), 169.22 (C=O-5), 140.77 (C-6), 61.85 (OCH_3 -6), 154.51 (C-7), 73.55 (C-8), 153.35 (C-9), 106.43 (C-10), 123.43 (C-1'), 128.16 (C-2'), 114.53 (C-3'), 162.59 (C-4'), 55.51 (OCH_3 -4'), 114.53 (C-5'), 128.16 (C-6'), 17.32 (CH_3 -ram-5'''), 66.33 (CH_2 -glu-5''), 103.17 (glu-1''), 68.90 (glu-2''), 70.84 (glu-3''), 68.80 (glu-4''), 72.32 (glu-5''), 99.16 (ram-1'''), 69.39 (ram-2'''), 70.84 (ram-3'''), 69.39 (ram-4'''), 69.39 (ram-5''') ppm.

11.2 Espectros

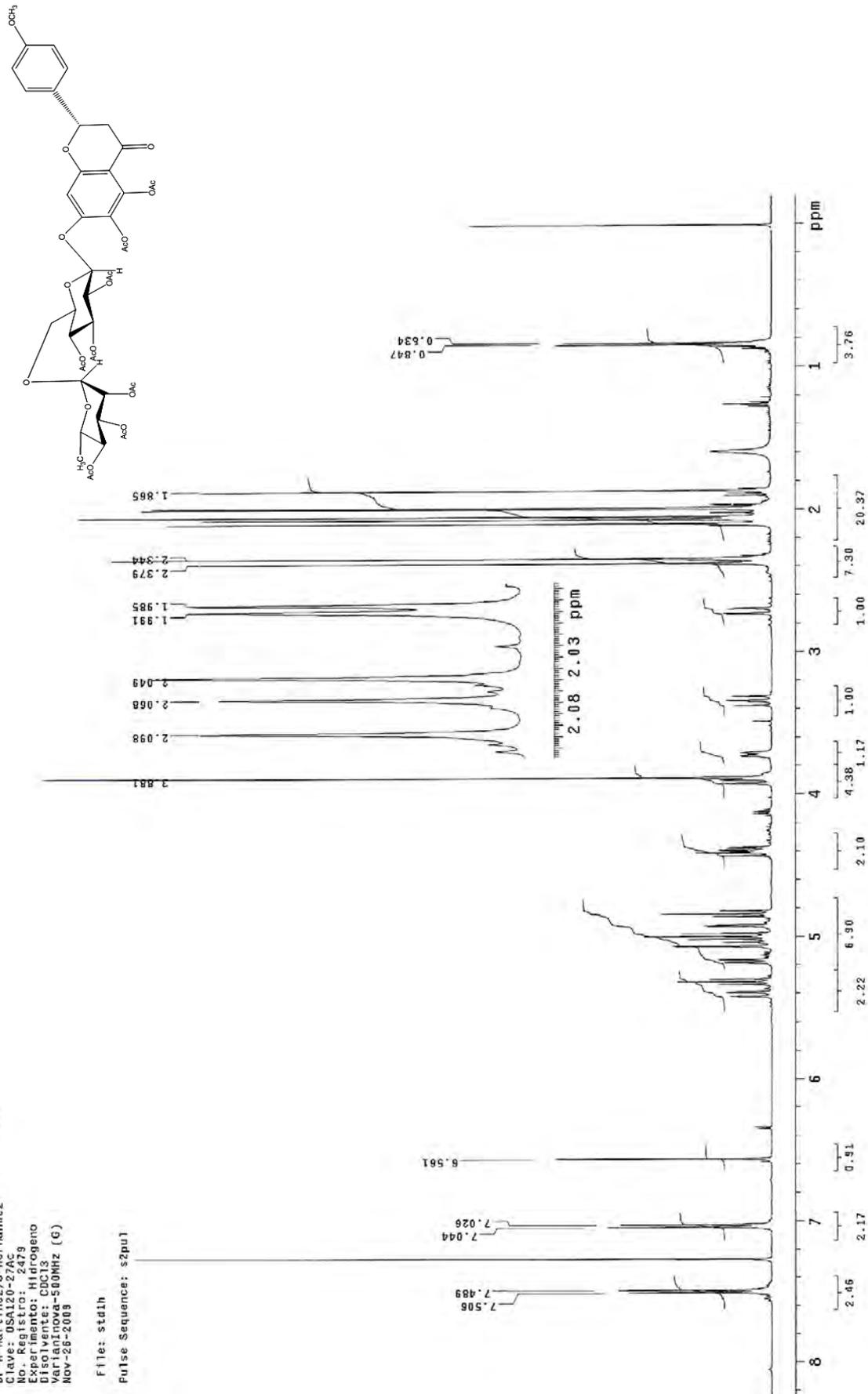


Espectro 1. IR Mezcla A.

UNAM, Instituto de Química. (H. Ríos)
 Dr.-M. Martínez/G-Hernández
 Clave: OSA120-27AC
 No. Registro: 2479
 Experimento: Hidrogeno
 Disolvente: CDCl3
 VarianInova-500MHz (G)
 Nov-26-2009

File: std1h

Pulse Sequence: s2pu1

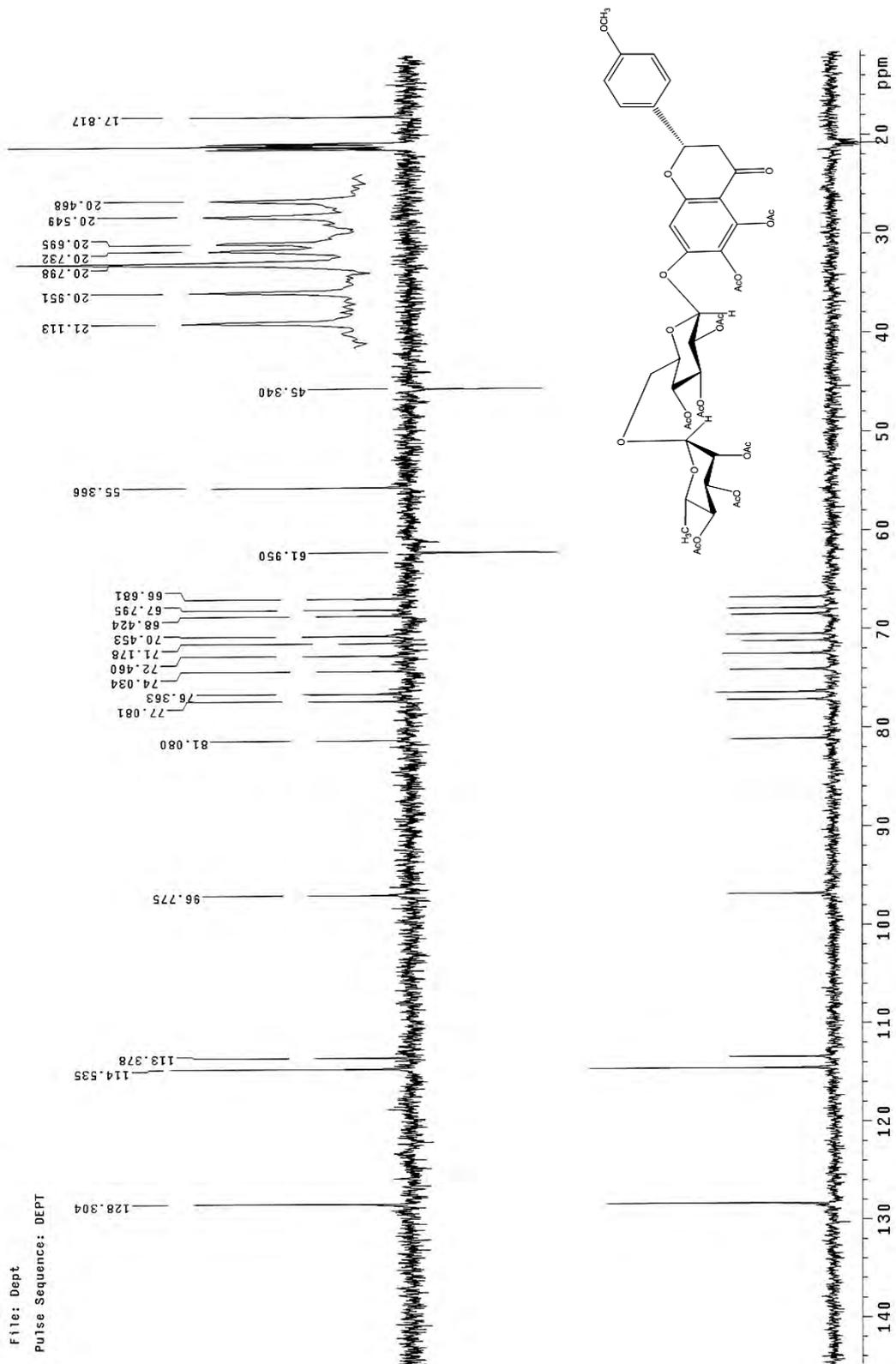


Espectro 3. RMN ¹H (500 MHz) 5,6-diacetato-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona.

UNAM. Instituto de Química. (H. Ríos)
 Dr.-M-Martínez/G-Hernández
 Clave: OSA120-27Ac
 No. Registro: 2479
 Experimento: Dept
 VarianInova-125.7 MHz (G)
 Nov-26-2009

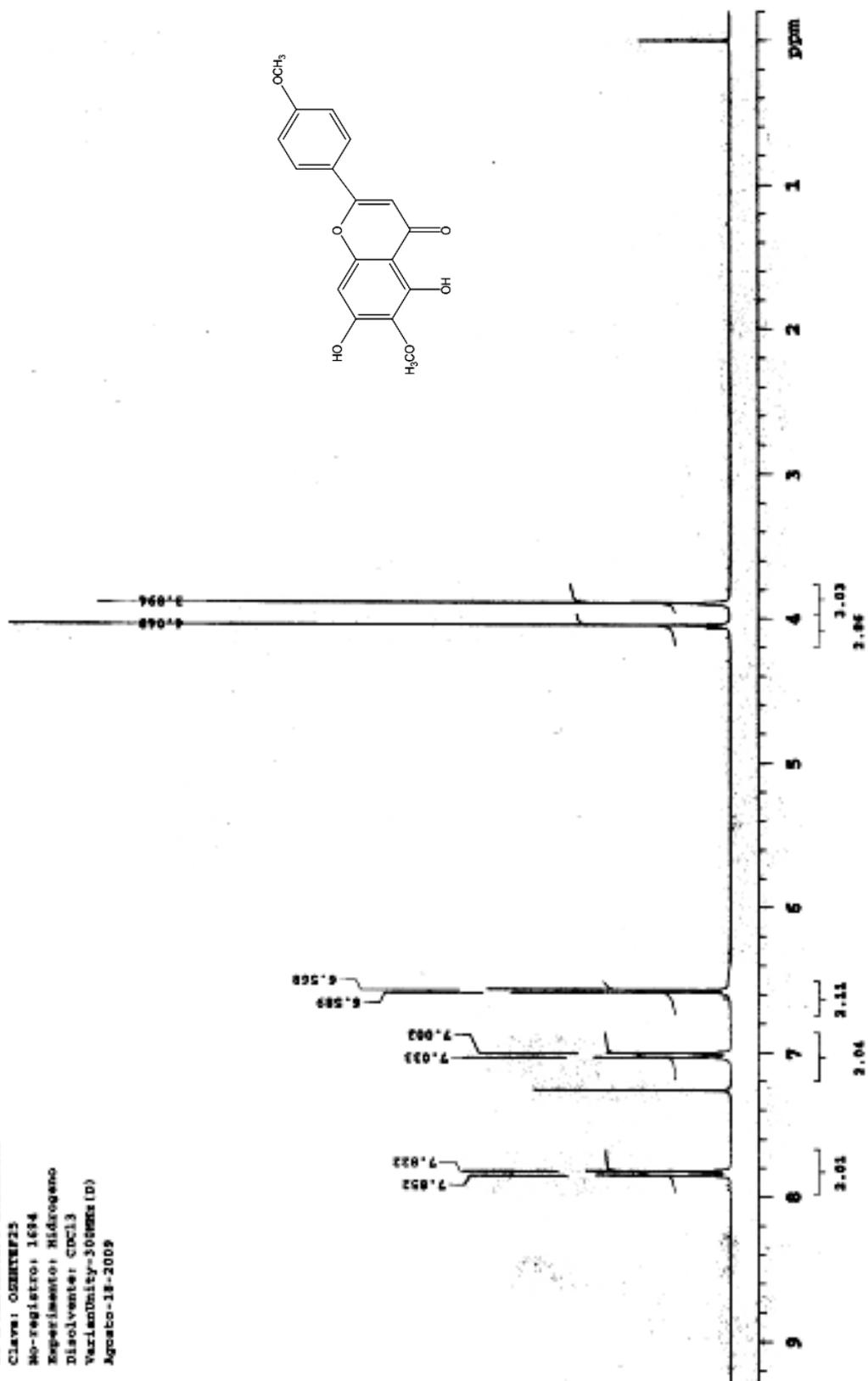
File: Dept

Pulse Sequence: DEPT



Espectro 5. RMN Dept 5,6-diacetato-4'-metoxi-7-O-acetilrutinosidoflavanona.

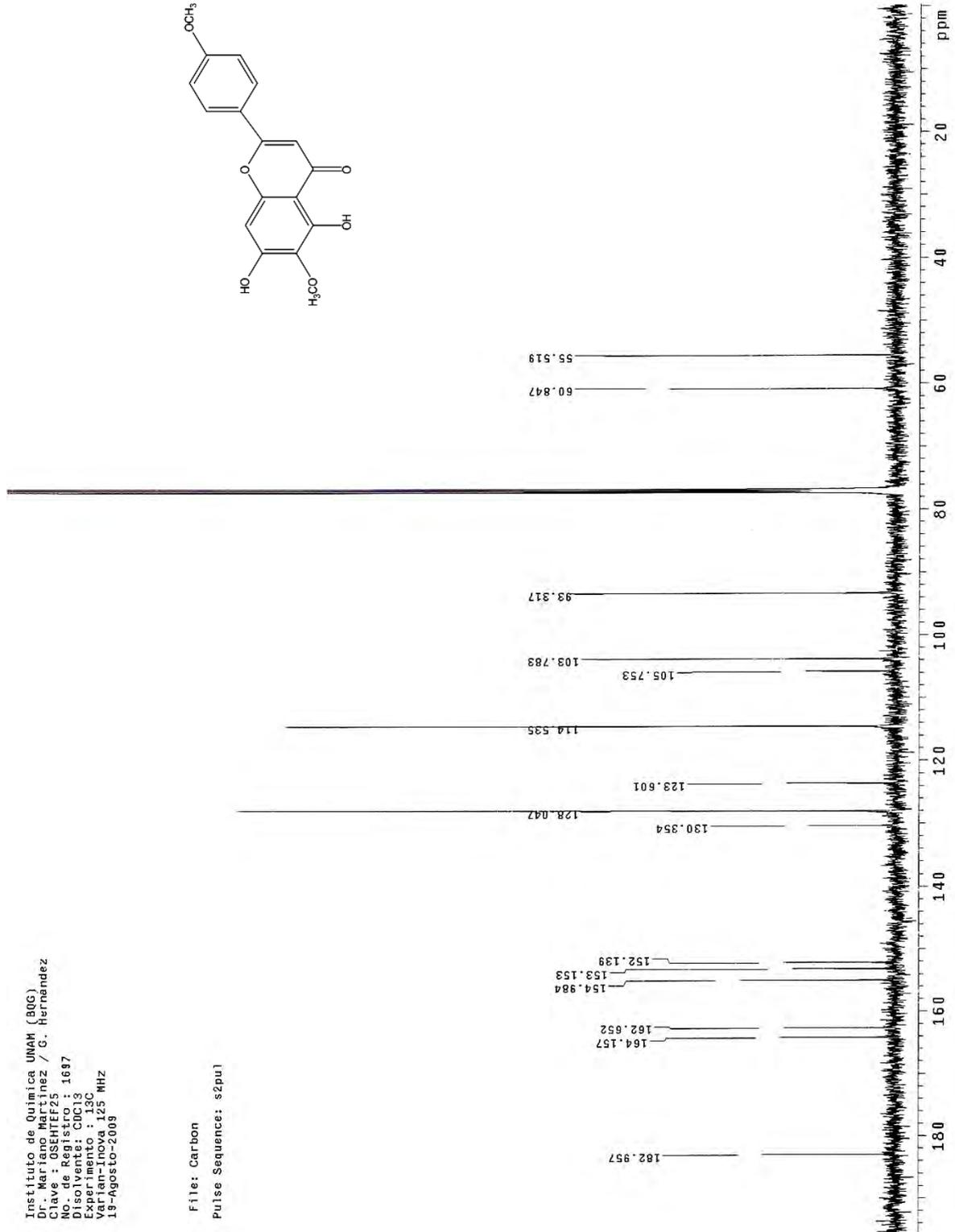
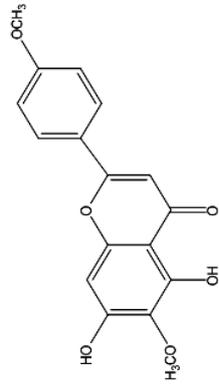
Instituto de Química, UNAM (M. B. Lora)
 Dr.-M. Martínez/G. Hernández
 Clave: O287V223
 No-registro: 1694
 Experimento: Hidrogeno
 Disolvente: CDCl3
 VarianUnity-300MHz (D)
 Agosto-18-2009



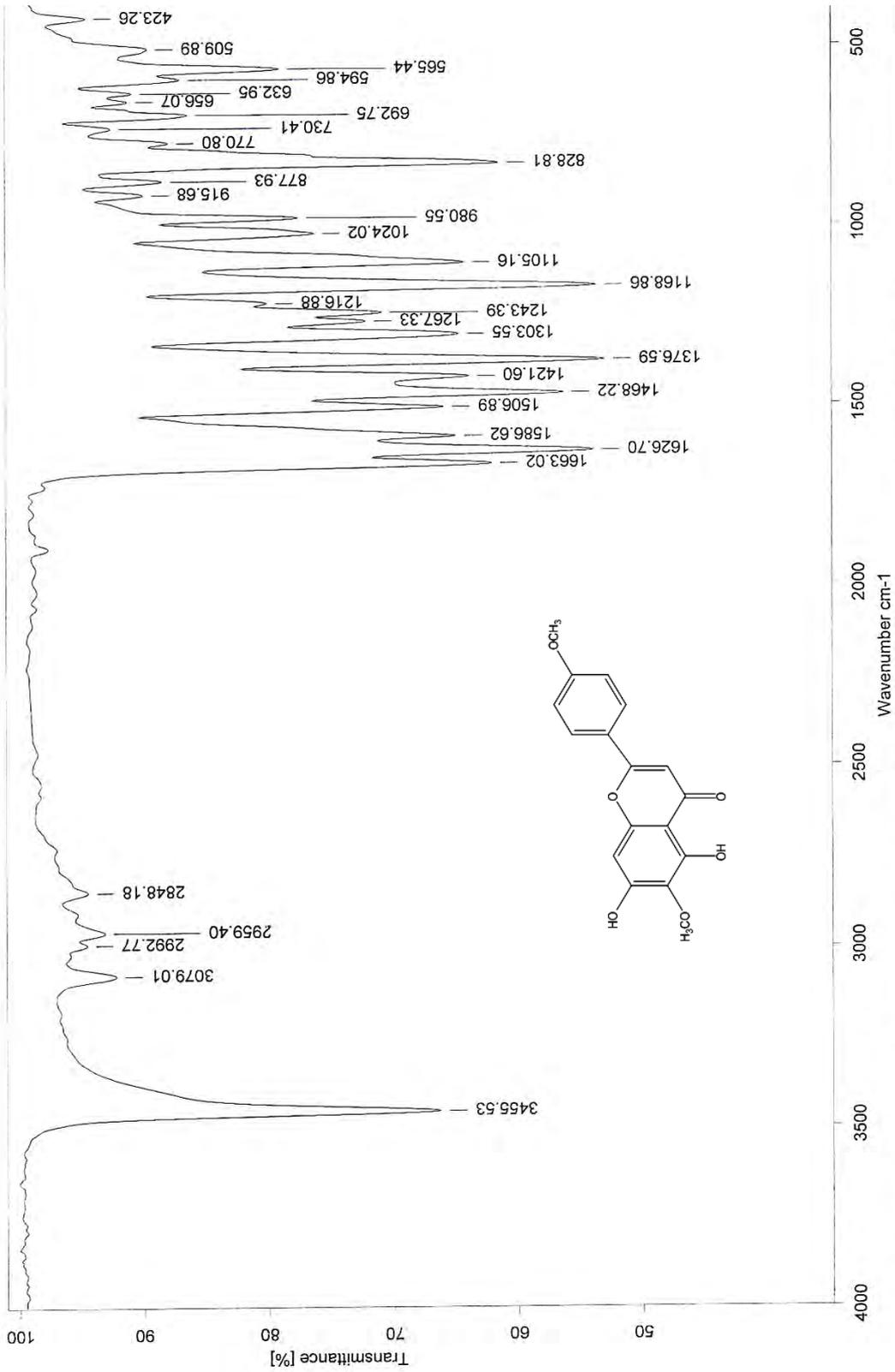
Espectro 6. RMN ¹H (300 MHz) pectolarigenina.

Instituto de Química UNAM (BQC)
Dr. Maricela Martínez / G. Hernández
Cl. Avda. de las Químicas
No. de Registro: 1697
Disolvente: CDCl₃
Experimento : 13C
Varian-Inova 125 MHz
19-Agosto-2009

File: Carbon
Pulse Sequence: s2pu1



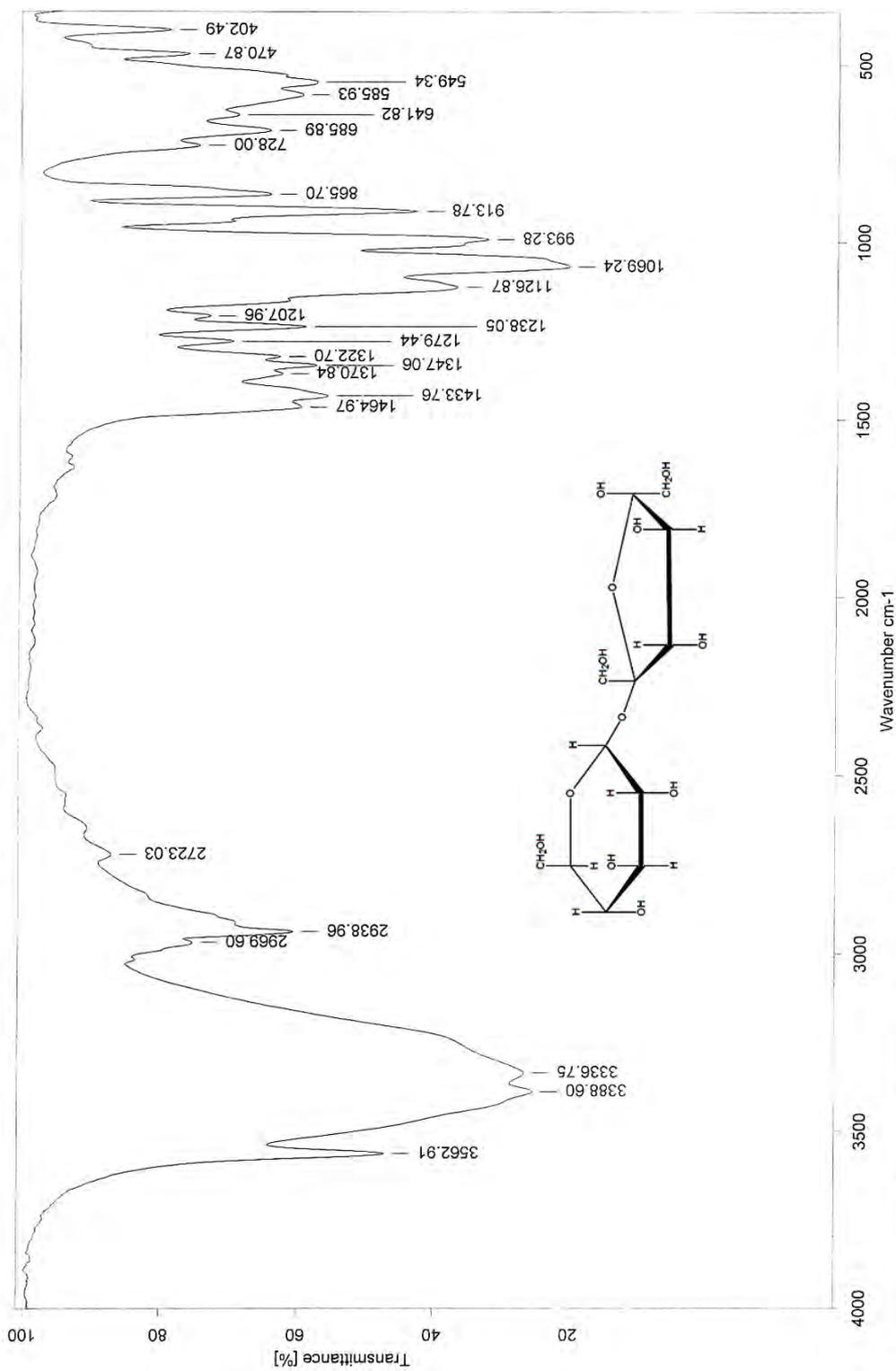
Espectro 7. RMN ¹³C pectolinarigenina



05/1/2009

C:\infrarrojo\AIR-2009\2305.0 Dr.M.Martinez OSEHTEF25 KBr/Pastilla RPM

Espectro 8. IR pectolinarigenina.

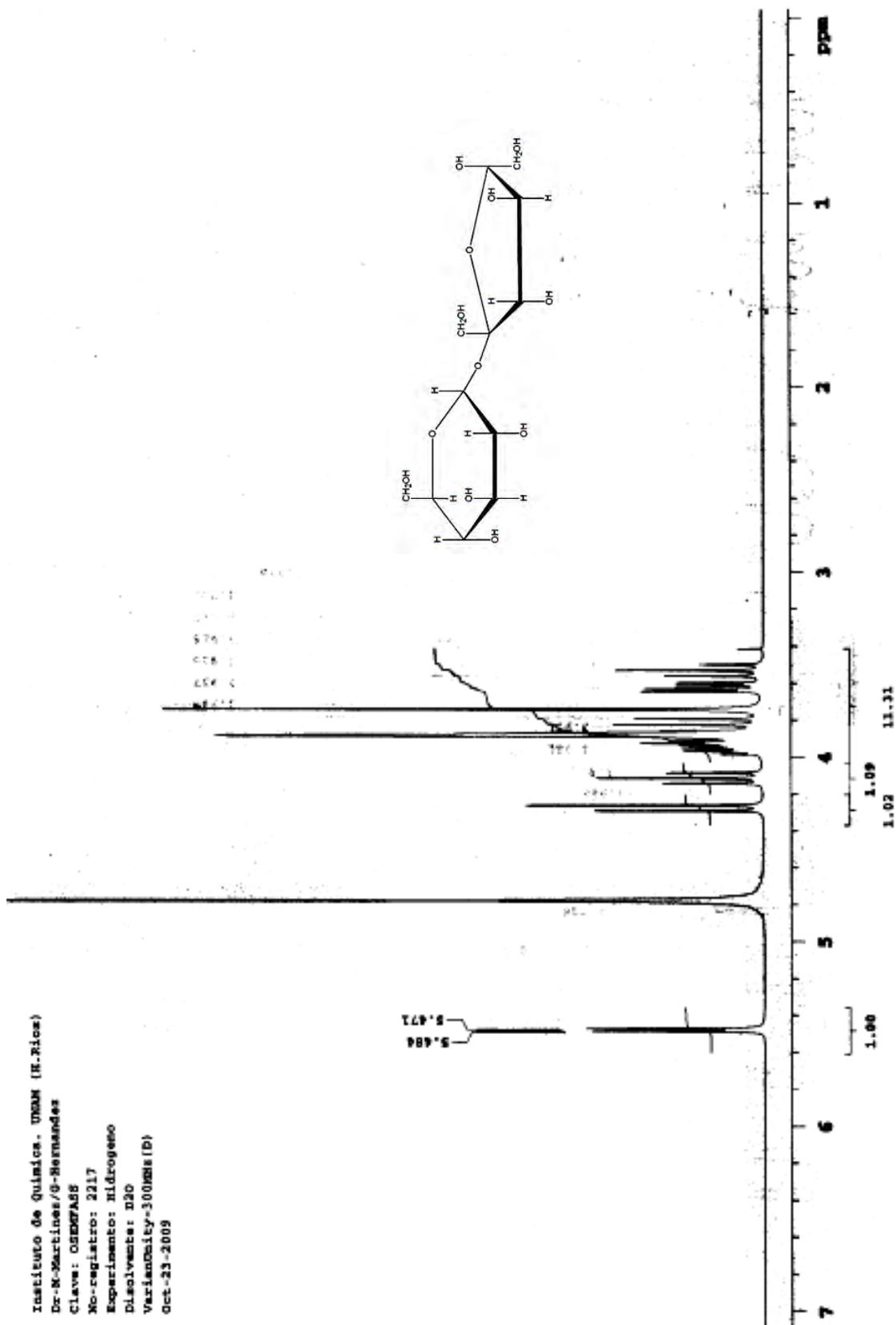


19/10/2009

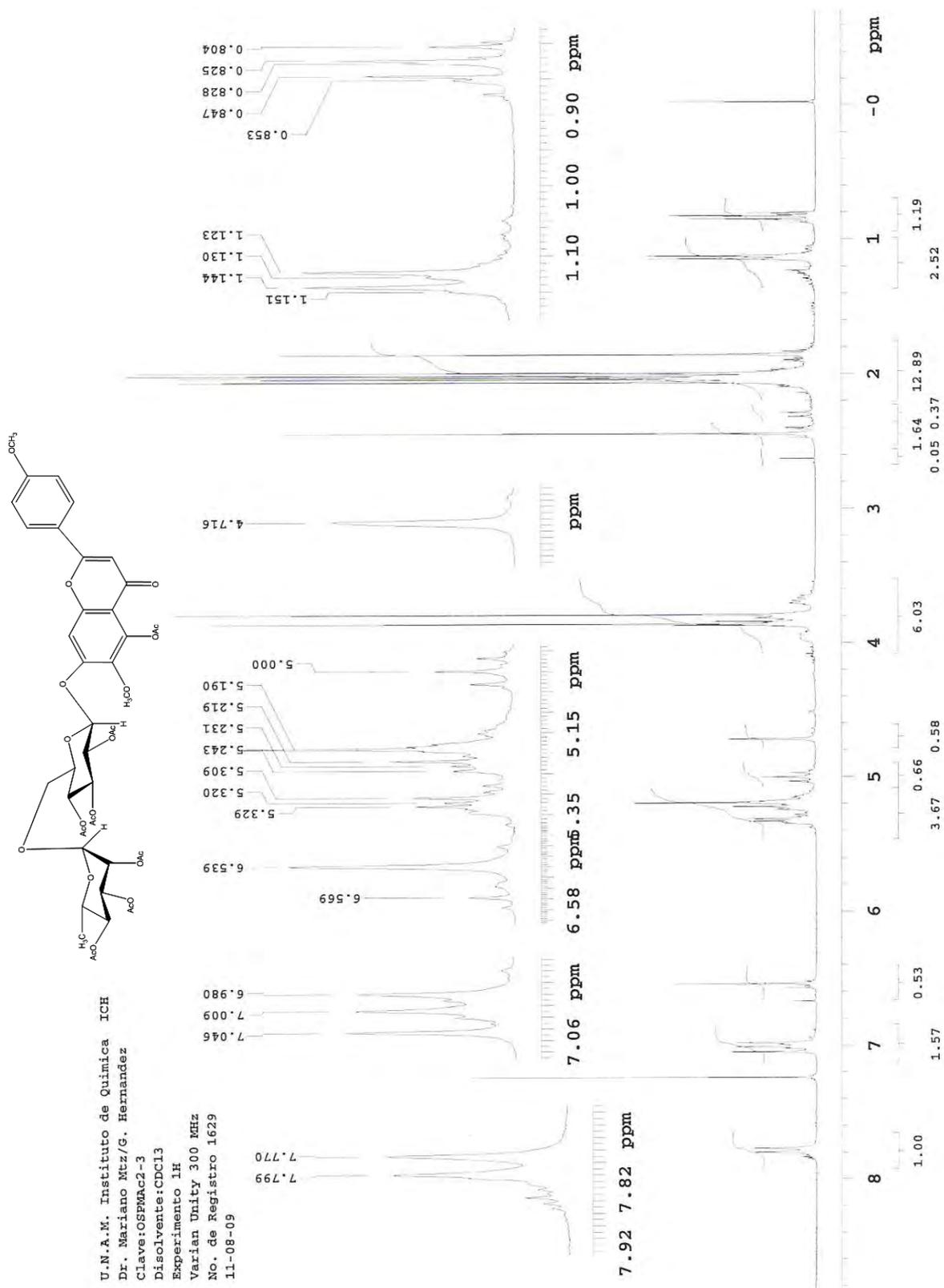
C:\infrarrojo\AIR-2009\2173.0 Dr.M.Martinez OSEMpa 55 KBr/Pastilla RPM

Espectro 9. IR sacarosa.

Instituto de Química, UNAM (R. Pico)
 Dr. R. Martínez/G. Hernández
 Clave: OSEMPASS
 No-registro: 2217
 Experimento: hidrogeno
 Disolvente: D2O
 VarianDcity-300MHz (D)
 Oct-23-2009

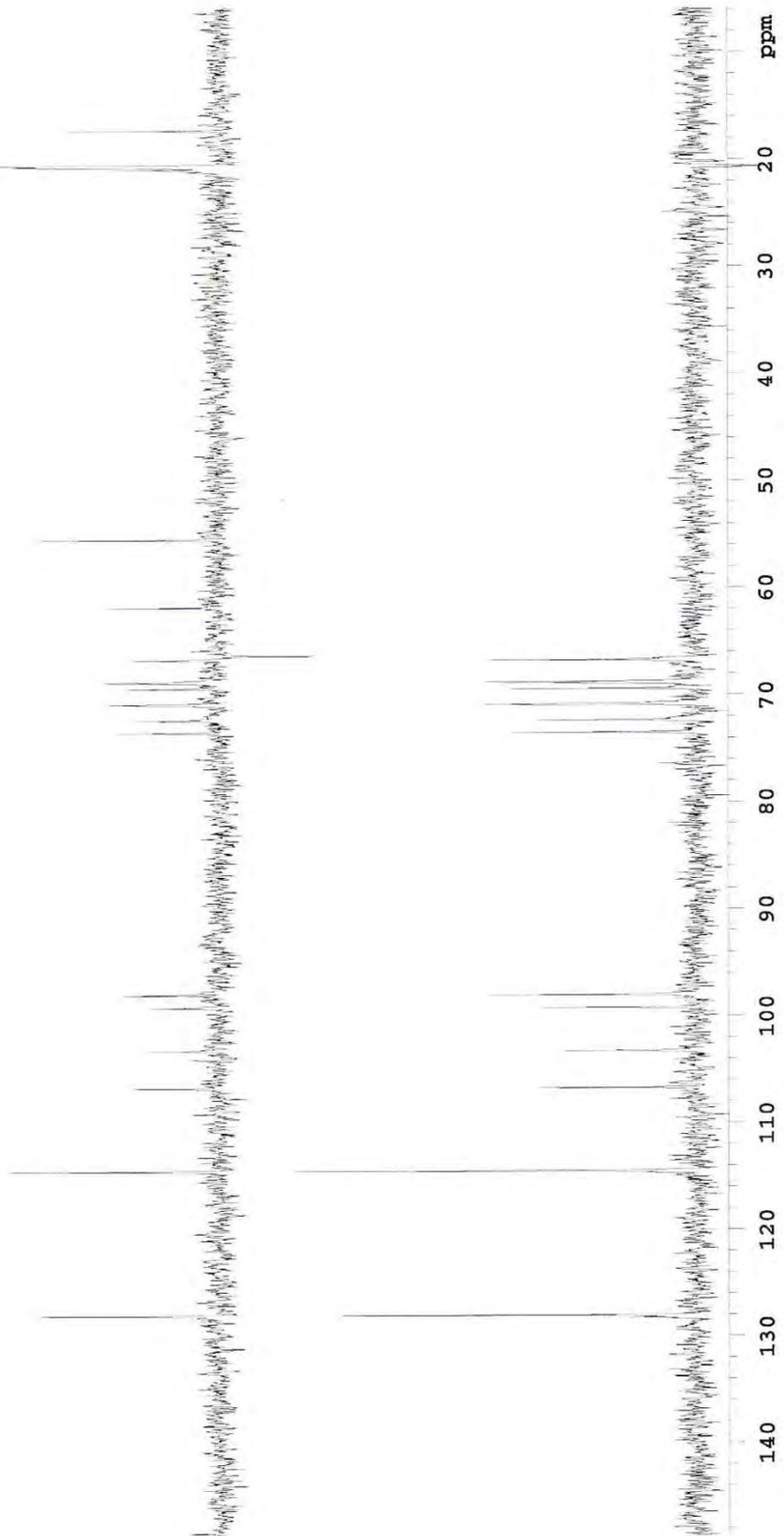
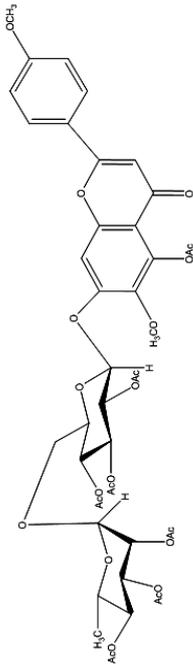


Espectro 10. RMN ^1H (300 MHz) sacarosa.



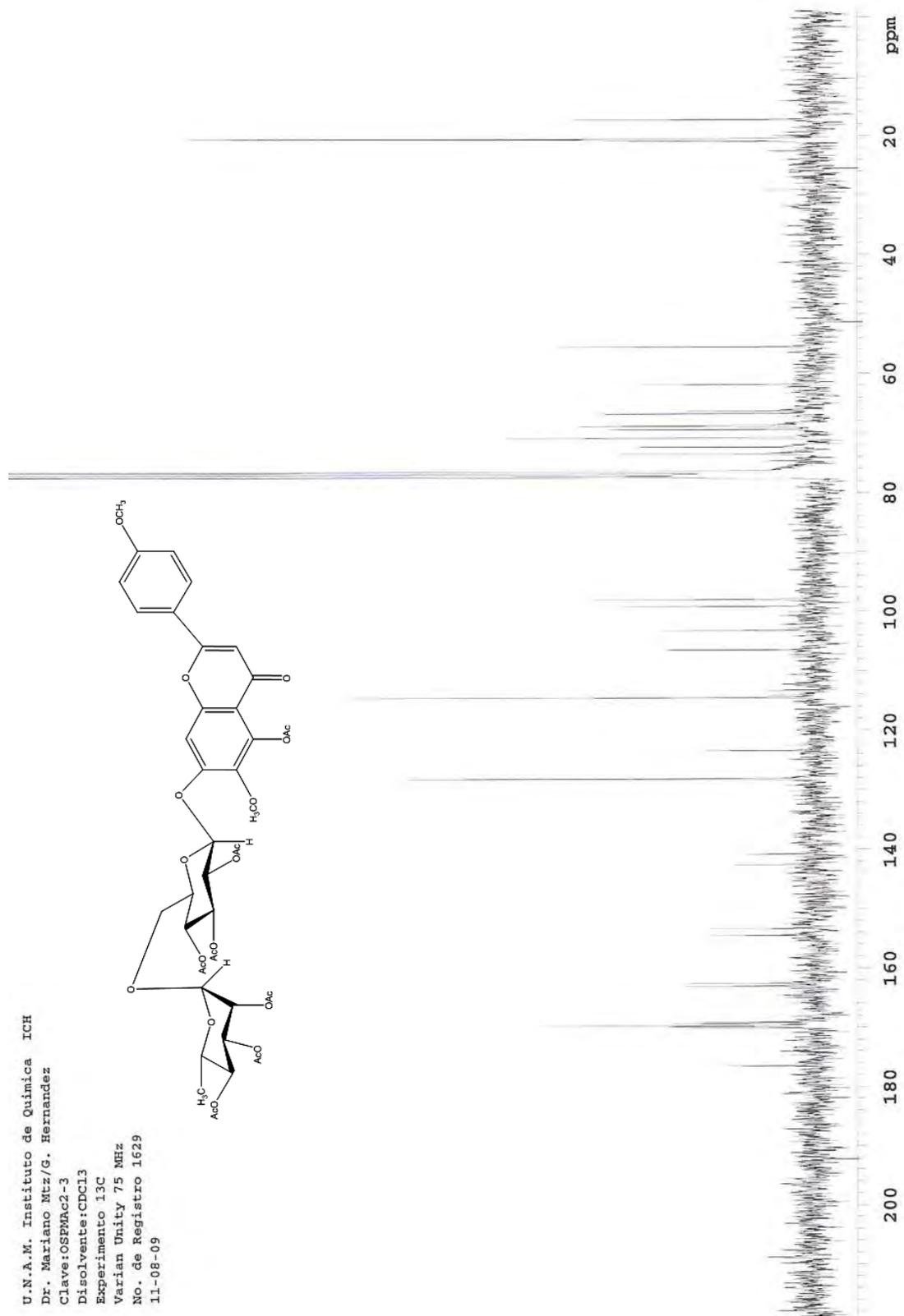
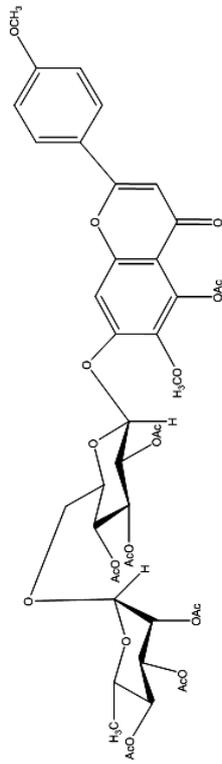
Espectro 11. RMN ¹H (300 MHz) acetato de pectolarina.

U.N.A.M Instituto de Química ICH
Dr. María Mercedes S. Hernández
Clave: FyOHB
Disolvente: CDCl₃
Experimento DEPT
Varian Unity 75 MHz (D)
No. de Registro 1633
11-08-09

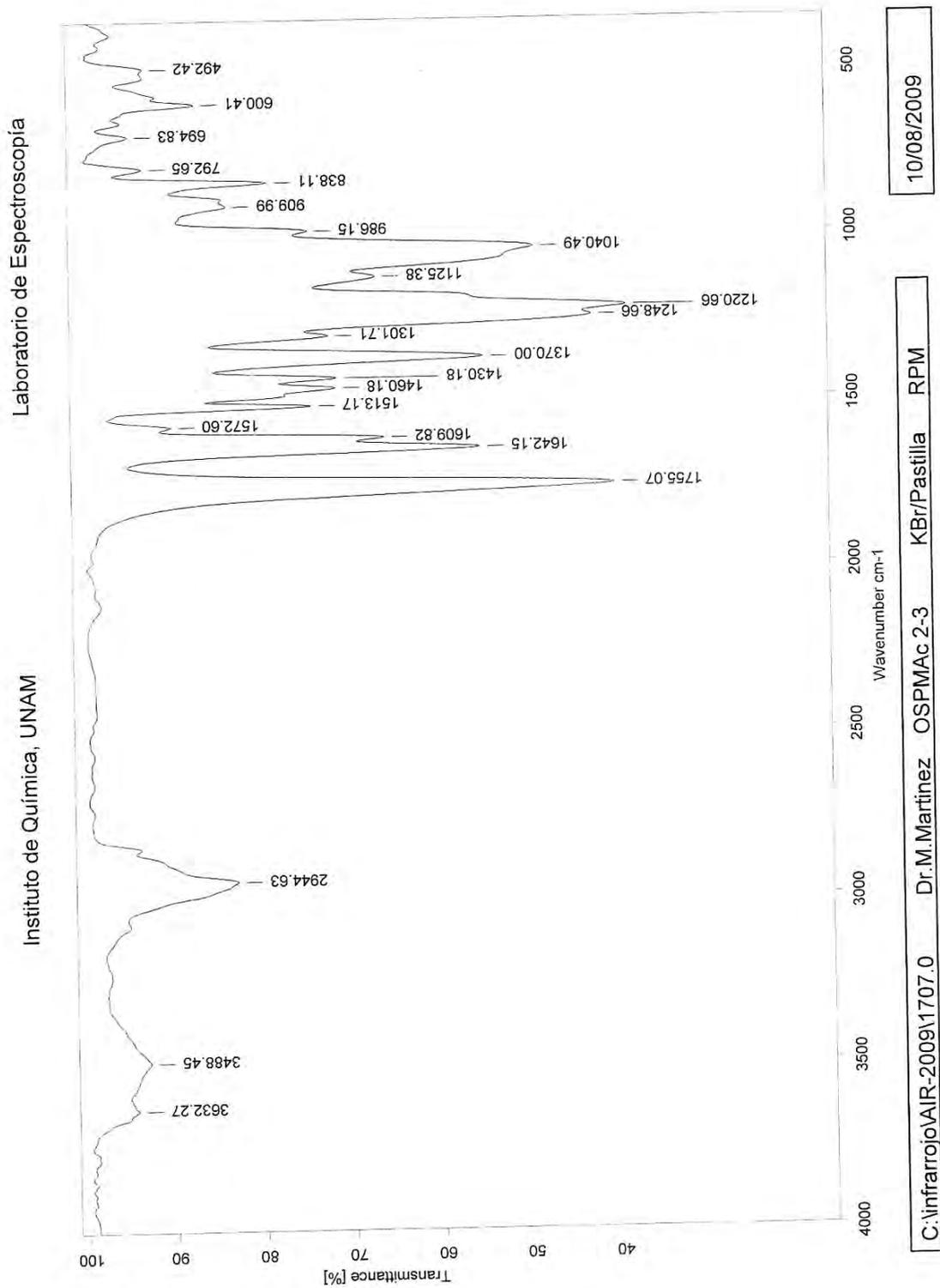


Espectro 12. RMN Dept acetato de pectolarina.

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. Mariano Mtz/G. Hernández
Clave:OSPMAC2-3
Disolvente:CDCl3
Experimento 13C
Varian Unity 75 MHz
No. de Registro 1629
11-08-09

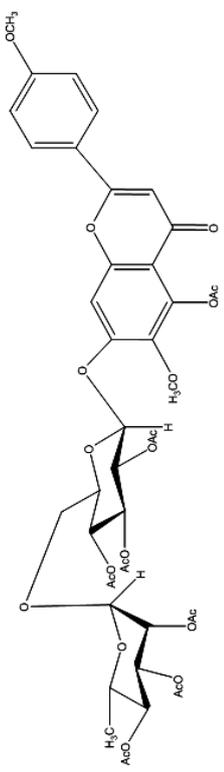
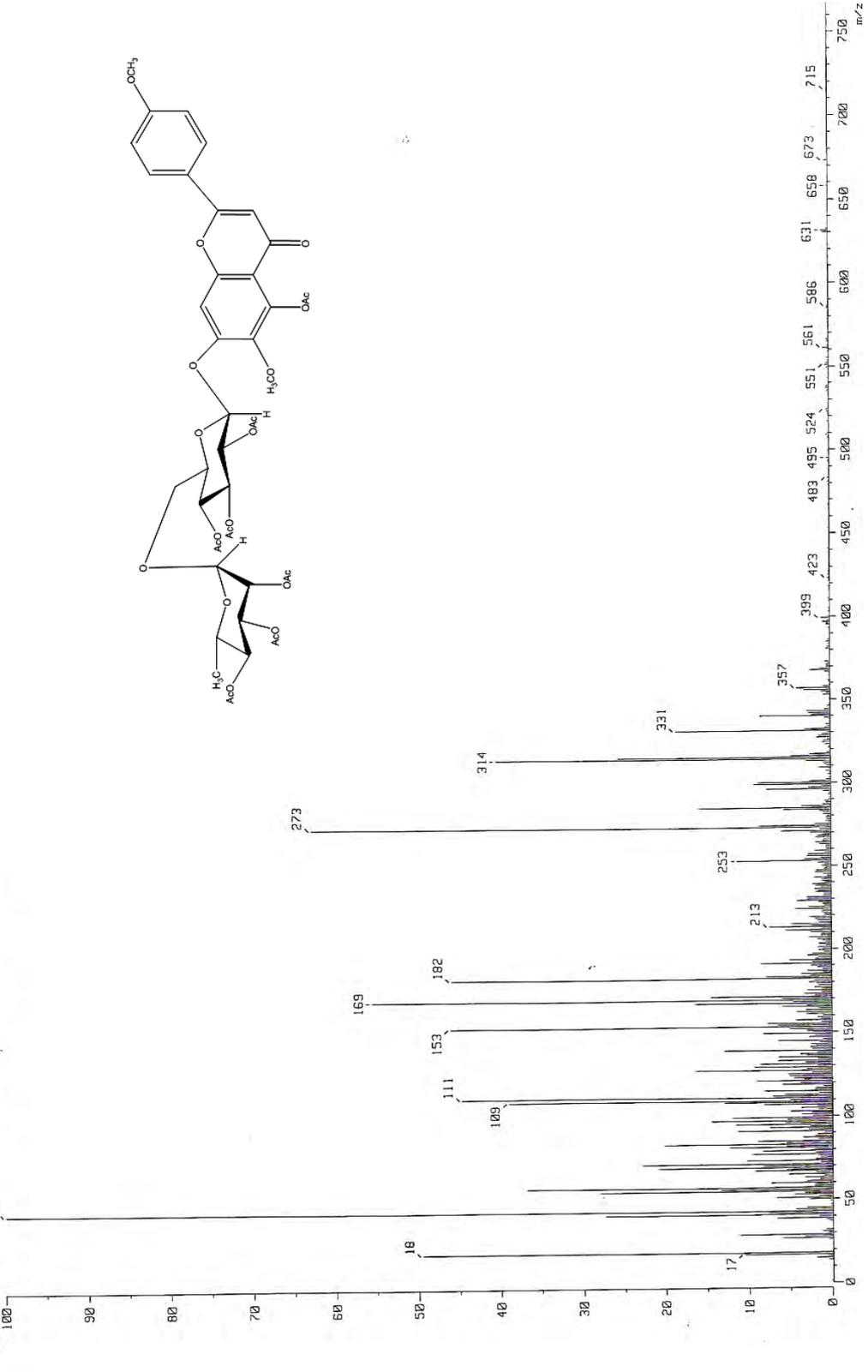


Espectro 13. RMN ¹³C acetato de pectolinarina.

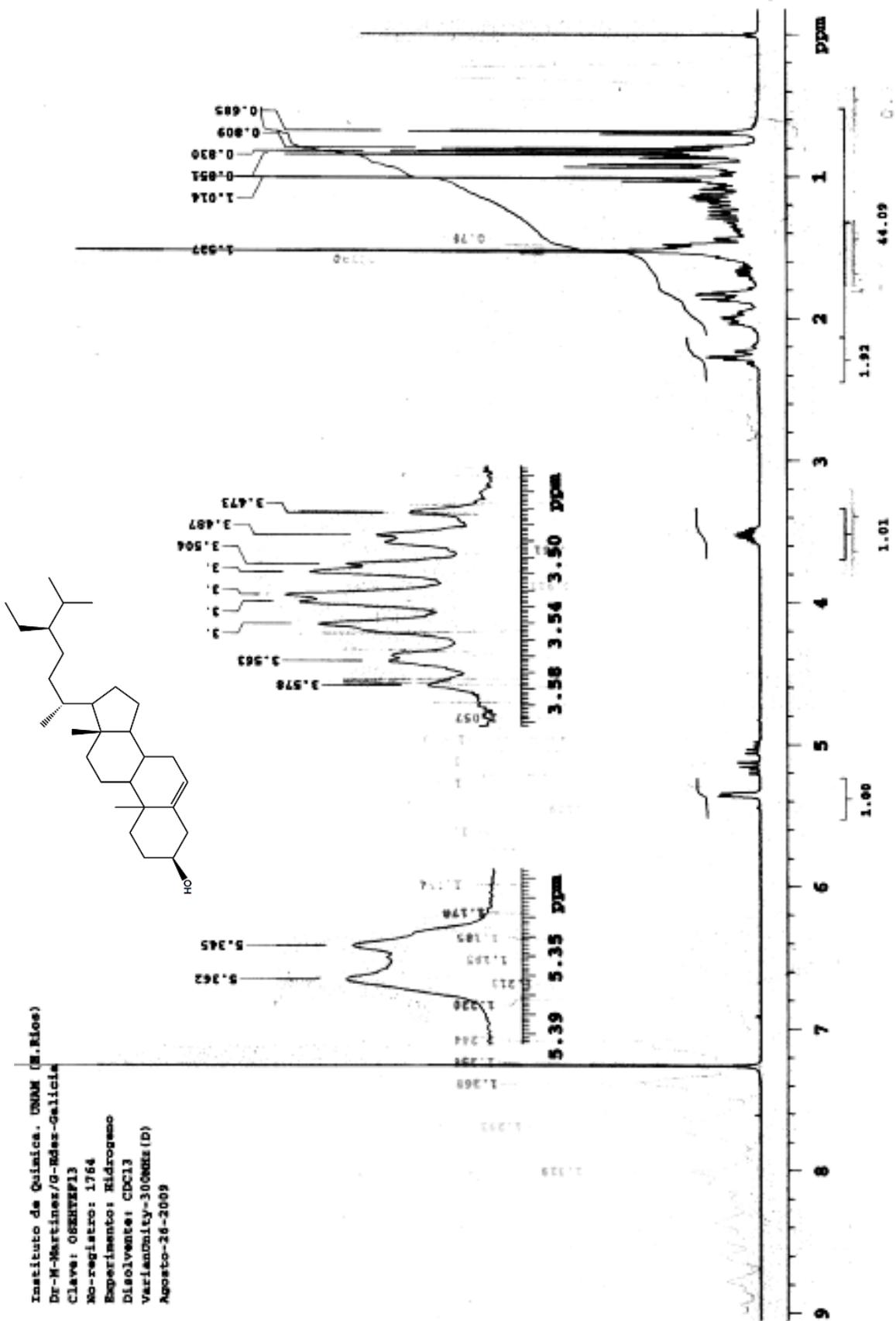


Espectro 14. IR acetato de pectolinarina.

[Mass Spectrum]
 Data : Dr-Martinez-Mariano-020 Date : 12-Aug-2009 09:22
 Sample: 1589 OSPHC 2-3 IC2 J60 SX102HA
 Note : Javier Perez
 Inlet : Direct Ion Mode : EI+
 Spectrum Type : Normal Ion [M-Linear]
 RT : 1.93 min Scan# : (22,59)
 BP : m/z 43.0000 Int. : 708.93
 Output m/z range : 0.0000 to 766.7656
 Cut Level : 0.00 %
 7433611



Espectro 15. Espectrometría de masa acetato de pectolarina.



Espectro 16. RMN ^1H (300 MHz) β -sitosterol.

11.3 Cartas



Secretaría del Medio Ambiente
Dirección General de Bosques Urbanos y Educación Ambiental
Dirección del Bosque de Chapultepec

SMA/ DGBUEA/DBCH/ 000809

México D.F., a 28 de Abril de 2009

ASUNTO: Material biológico.

DR. MARIANO MARTÍNEZ VÁZQUEZ
INVESTIGADOR TITULAR
INSTITUTO DE QUÍMICA
UNAM
CIRCUITO EXTERIOR CIUDAD UNIVERSITARIA
DEL COYOACAN, C.P. 04510, MÉXICO, D.F.
A.P. 70-213
TEL: 56-16-25-76
FAX: 56-16-22-17

Por este conducto y en atención a su comunicado sin número del día 14 de los presentes, mediante el cual solicita material biológico (hojas) de la planta *Oncidium sphacellatum* (Orquidaceae) para su investigación con relación a posibles propiedades fitotóxicas, me permito comentarle que no existe inconveniente para la obtención de dicho material y que se pueda continuar con la importante labor que realiza su institución a través de la investigación para el control de cáncer, sobre todo por los resultados del material obtenido de la orquídea *Laella anceps* con propiedades citotóxicas a la línea de cáncer de mama.

De igual manera que en las ocasiones anteriores, podrá ser obtenido el material solicitado, a través del Biólogo Martín Aguilar Cervantes, Jefe de la Unidad de Servicios Especiales y Jardín Botánico del Bosque de Chapultepec.

Sin más por el momento, aprovecho la ocasión para enviarte un cordial saludo.

**ATENTAMENTE
LA DIRECTORA**

ROSA MARÍA GÓMEZ SOSA

c.c.p. Ing. Arq. Francisco Domínguez Aranda, Director General de Bosques Urbanos y Educación Ambiental. Presente

Folio No.: 01394

MRS/JMAC/IMAC



1° Secc. del Bosque de Chapultepec
Col. San Miguel Chapultepec, C.P. 11860
Delegación Miguel Hidalgo
Tel. 52 71 19-39



Secretaría del
Medio Ambiente

Carta 1. Comunicado de donación de hojas de *Oncidium sphacelatum* del Jardín Botánico del Bosque de Chapultepec México, D. F.

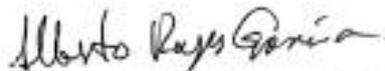
México D. F., a 4 de diciembre de 2009

**Pas. de Biol. Gabriela Hernández Galicia
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza
PRESENTE**

Por este medio le agradezco el OBSEQUIO de dos ejemplares botánicos de la especie *Oncidium sphacelatum* Lindl. (Orchidaceae), que colectó usted en el Bosque de Chapultepec de la Ciudad de México, D. F., en abril de 2009 y son el respaldo de su tesis de licenciatura: Fitoquímica y evaluación de la actividad antiinflamatoria y citotóxica de extractos orgánicos y compuestos aislados de hojas de *Oncidium sphacelatum* Lindl. (Orchidaceae). Los ejemplares están debidamente herborizados, etiquetados y determinados a su especie correspondiente por lo que se procesarán y serán integrados a la colección del Herbario Nacional de México. También se incluyen fotos de la especie que se montarán con los ejemplares de herbario.

Sin más por el momento le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE



**M. en C. Alberto Reyes-García
Encargado de Obsequios del Herbario Nacional México (MEXU)**