



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**ESTUDIO QUÍMICO Y ACTIVIDAD
ANTIINFLAMATORIA Y CITOTÓXICA DE UN
EXTRACTO DE *Neolloydia conoidea*.**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGO

P R E S E N T A:

NOMBRE: SERBANDO SÁNCHEZ HERNÁNDEZ

DIRECTORA: Dra. Hortensia Parra Delgado

ASESORA INTERNA: Dra. Hortensia Rosas Acevedo



MÉXICO D. F., 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

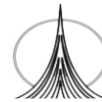


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
 AVENIDA DE
 MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"
DIRECCIÓN

**JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
 PRESENTE.**

Comunico a usted que el alumno **SÁNCHEZ HERNÁNDEZ SERBANDO**, con número de cuenta **402096289**, de la carrera de Biología se le ha fijado el día **12** del mes de **abril** de 2011 a las **10:00 hrs.** para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

- | | | |
|------------|--------------------------------------|---------------------------|
| PRESIDENTE | DRA. LEONORA SÁNCHEZ GARCÍA FIGUEROA | |
| VOCAL | DRA. HORTENSIA PARRA DELGADO* | |
| SECRETARIO | M. en C. MA. DE JESÚS SÁNCHEZ COLÍN | |
| SUPLENTE | DRA. HORTENSIA ROSAS ACEVEDO | <i>Hortensia Rosas A.</i> |
| SUPLENTE | DRA. EVA AGUIRRE HERNÁNDEZ | <i>Eva Aguirre Hdez.</i> |

El título de la tesis que presenta es: **Estudio químico y actividad antiinflamatoria y citotóxica de un extracto de *Neolloydia conoidea*.**

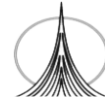
Opción de titulación: Tesis.

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
 México, D. F., a 2 de marzo de 2011.
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA
DIRECCIÓN
Dr. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
DIRECTOR

RECIBÍ
 OFICINA DE EXÁMENES
 PROFESIONALES Y DE GRADO

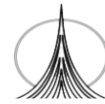
VO. BO.
 Dr. CARLOS CASTILLO JOSÉ CRUZ
 JEFE DE CARRERA



Dedicatorias

- *A mi padre, madre y hermana, por todo el cariño y apoyo que me han dado siempre, por ser una familia unida en los momentos de bonanza y de tempestad. Por luchar juntos siempre contra las adversidades que nos pone la vida.*
- *A la memoria de mi abuelita, la señora Aurelia Sánchez Torres que luchó incansablemente por enseñar a sus hijos y nietos a ser gente trabajadora, responsable y de buen corazón.*
- *A mi amada Beyi, por todo el apoyo, cariño y amor que me ha dado y que me sigue dando.*
- *A todas las almas que alguna vez estuvieron a mi lado y que hoy ya no están, pero que jamás olvidaré. Por cada una de las lecciones de vida, que cada una me enseñó.*

*“La adversidad agudiza el talento, la prosperidad lo limita”
Horacio.*

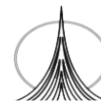


Agradecimientos

- ❖ A los Doctores Mariano Martínez Vázquez y Hortensia Rosas Acevedo por permitirme realizar mi tesis en el laboratorio 1-4 del Instituto de Química.
- ❖ A la Dra. Hortensia Parra Delgado, por ser mi directora de tesis, por todas sus enseñanzas y conocimientos adquiridos en el inicio, desarrollo y culminación de este trabajo. Por todo su apoyo en todo momento.
- ❖ Al Dr. José Luis Figueroa Hernández, por su amistad y por todas las amenas charlas dentro y fuera del laboratorio que jamás olvidaré.
- ❖ A los sinodales, las Doctoras Leonora Sánchez García Figueroa, Hortensia Parra Delgado, Hortensia Rosas Acevedo, Eva Aguirre Hernández y a la M. en C. María De Jesús Sánchez Colín por sus valiosos comentarios y sugerencias para mejorar este trabajo.
- ❖ A la Dra. Teresa Terrazas del Instituto de Biología, por su valiosa participación en la recolección e identificación de la especie biológica de estudio.
- ❖ Al M. en C. Antonio Nieto Camacho, y a la Dra. Teresa Ramírez Apán por su valioso apoyo, en la realización de cada una de las pruebas biológicas que se reportan en este trabajo.
- ❖ A los especialistas de los laboratorios de RMN, IR, EM Y HPLC, por su valiosa participación en la elaboración de cada uno de los espectros presentados en esta tesis.
- ❖ A Luis Samayoa Navarrete, René Mandujano Hurtado, Anahí Cruz Mejía, Liliana Ramos Mogollan, Mario Augusto Bolaños y Carlos Revelo por su apoyo y por todos los momentos divertidos.
- ❖ A la FES-Zaragoza, al Instituto de Química, a la UNAM y a México.

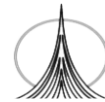


EI PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL LABORATORIO 1-4 DEL INSTITUTO DE QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, BAJO LA DIRECCIÓN DE LA DRA. HORTENSIA PARRA DELGADO Y CON LA AYUDA DEL PROGRAMA DE APOYO A PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA (PAPIIT) IN-206108.

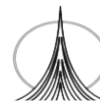


I. ÍNDICE

1. RESUMEN.....	13
2. INTRODUCCIÓN.....	14
3. MARCO TEÓRICO.....	16
3.1. Familia Cactaceae.....	16
3.2. Género <i>Neolloydia</i>	19
3.3. Descripción botánica y taxonomía de <i>Neolloydia conoidea</i>	20
3.4. Clasificaciones anteriores de <i>N. conoidea</i>	21
3.5. Distribución geográfica de <i>N. conoidea</i>	22
3.6. Metabolitos secundarios.....	23
3.6.1. Metabolitos secundarios de las cactáceas.....	27
3.6.2. Actividad biológica de los metabolitos secundarios.....	31
3.7. Inflamación.....	32
3.7.1. Terapéutica de la inflamación.....	34
3.7.2. Fármacos antiinflamatorios esteroidales.....	35
3.7.3. Fármacos antiinflamatorios no esteroidales.....	36
3.8. Cáncer.....	37
3.8.1. Relación Cáncer-Inflamación.....	38
3.9. Antecedentes químicos del género <i>Neolloydia</i>	40
3.10. Actividad biológica de los metabolitos secundarios del género <i>Neolloydia</i>	41
4. HIPÓTESIS.....	42
5. JUSTIFICACIÓN.....	43
6. OBJETIVOS.....	44
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	45
7.1. Estudio fitoquímico.....	45
7.2. Análisis espectroscópico.....	46
7.3. Determinación de la actividad citotóxica.....	47

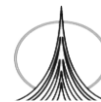


7.4. Evaluación de la actividad antiinflamatoria.....	48
7.5. Determinación de la actividad atrapadora de radicales libres mediante el ensayo con DPPH.....	49
7.6. Determinación de la actividad antioxidante mediante el ensayo de la inhibición de la peroxidación de lípidos de cerebro de rata mediante el uso de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) con FeSO ₄ 10 μM.....	50
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	52
8.1 Estudio químico.....	52
8.2 Rendimiento.....	68
8.3 Actividad citotóxica del extracto orgánico y de los metabolitos secundarios de <i>N. conoidea</i>	68
8.4 Actividad antiinflamatoria del extracto orgánico y de los metabolitos secundarios de <i>N. conoidea</i> en el modelo de edema inducido en oreja de ratón por TPA.....	69
8.5 Actividad antioxidante y atrapadora de radicales libres del extracto orgánico y de los metabolitos secundarios de <i>N. conoidea</i>	70
9. CONCLUSIONES.....	72
10. LITERATURA CITADA.....	73
11. REFERENCIAS ELECTRÓNICAS.....	80



ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Los géneros de las cactáceas en México.....	17
Cuadro 2. Clasificación de los metabolitos secundarios de acuerdo a su origen biosintético.....	25
Cuadro 3. Elementos que intervienen en la reacción inflamatoria.....	32
Cuadro 4. La inflamación como factor de riesgo para el desarrollo del cáncer.....	38
Cuadro 5. Fracciones obtenidas de la columna cromatográfica del extracto orgánico.....	52
Cuadro 6. Asignación de las señales del espectro de RMN ¹ H para el sólido D.....	65
Cuadro 7. Señales experimentales de RMN ¹ H del Hexaacetato de neolloydosina.....	67
Cuadro 8. Rendimiento de los metabolitos secundarios aislados del extracto de <i>N. conoidea</i> con respecto al peso del extracto orgánico.....	68
Cuadro 9. Efectos de citotoxicidad de los metabolitos secundarios aislados de <i>N. conoidea</i>	69
Cuadro 10. Acción atrapadora de radicales libres y actividad antioxidante del extracto orgánico y de la 1,6-diferuloil-glucosa.....	71



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución geográfica de las cactáceas en México.....	16
Figura 2. <i>Neolloydia conoidea</i>	20
Figura 3. Distribución geográfica de <i>Neolloydia conoidea</i> en México.....	22
Figura 4. Correlación entre el metabolismo primario y el metabolismo secundario.....	26
Figura 5. Chichipegenina, triterpeno aislado del garambullo (<i>Myrtillocactus geometrizans</i>).....	27
Figura 6. Peniocerol, esteroide presente en <i>Stenocereus pruinosus</i>	28
Figura 7. Weberina y Peyotina, alcaloides aislados del cardón gigante (<i>Pachycerus weberi</i>).....	29
Figura 8. Estructura general de los flavonoides	30
Figura 9. Quercetina y canferol.....	30
Figura 10. Fármacos antiinflamatorios esteroidales.....	35
Figura 11. Fármacos antiinflamatorios no esteroidales.....	36
Figura 12. Metabolitos secundarios aislados de <i>N. texensis</i>	40
Figura 13. Espectro de IR del sólido A.....	53
Figura 14. Espectro de masas (IE) del sólido A.....	53
Figura 15. Espectro de RMN ¹ H (300 MHz) del sólido A.....	54
Figura 16. Espectro de RMN ¹³ C (75.43 MHz) del sólido A.....	55
Figura 17. Experimento DEPT del sólido A.....	55
Figura 18. Acetovainillona (sólido A).....	56
Figura 19. Espectro de IR del sólido B.....	56
Figura 20. Espectro de masas (IE) del sólido B.....	57
Figura 21. Espectro de RMN ¹ H (300 MHz) del sólido B.....	58
Figura 22. Espectro de RMN ¹³ C (75.4 MHz) del sólido B.....	59
Figura 23. Experimento DEPT (75.43 MHz) del sólido B.....	59
Figura 24. 1-(3,4-dimetoxifenil)-3-hidroxiopropanona (sólido B).....	60
Figura 25. Espectro de IR del sólido D.....	61
Figura 26. Espectro de masas (IE) del sólido D.....	61
Figura 28. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz) del sólido D.....	62

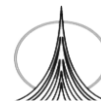
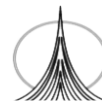
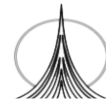


Figura 28. Espectro de RMN ^{13}C (125.7 MHz) del sólido D	63
Figura 29. Experimento DEPT del sólido D	63
Figura 30. Interacciones diagnósticas observadas en los experimentos COSY, NOESY YHMBC para el sólido D (1,6-diferuloil-glucosa).....	64
Figura 31. Espectro de RMN ^1H (300MHz) del sólido E	66
Figura 32. Hexaacetato de neolloydosina (Sólido E).....	67
Figura 33. Curva comparativa del efecto antiinflamatorio de Acetovainillona (A), 1,6 diferuloil-glucosa (E) e Indometacina.....	70



ABREVIATURAS

- AA: Ácido araquidónico
AcOEt: Acetato de etilo
ACT: Ácido tricloroacético
ADN: Ácido desoxirribonucleico
AINE'S: Antiinflamatorios no esteroideos
CCF: Cromatografía en capa fina
CI₅₀: Concentración inhibitoria media
CDCl₃: Cloroformo deuterado
CH₂Cl₂: Cloruro de metileno
CH₂Cl₂-MeOH: Diclorometano-metanol
COX: Ciclooxygenasa
DI₅₀: Dosis inhibitoria media
DMSO: Dimetilsulfóxido
DMSO-d₆: Dimetilsulfóxido hexadeuterado
DO: Densidad óptica
DPPH: 1,1-difenil-2-picril hidrazil
EDTA: Ácido etilen-diamino-tetraacético
E_{max}: Efecto máximo
EM-IE: Espectrometría de masas por impacto electrónico
HCT-15: Línea celular de cáncer de colon
INEGI: Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática
(i-Pr)₂O: Éter isopropílico
IR: Espectrometría de infrarrojo
K-562: Línea celular de leucemia linfoblástica crónica
DL₅₀: Dosis letal media
MCF-7: Línea celular de cáncer de mama
MeOH: Metanol
MHz: Megahertz
MS: Metabolitos secundarios
MT: Medicina tradicional



OMS: Organización Mundial de la salud

PC-3. Línea celular de cáncer de próstata

PLA2: Fosfolipasa-A2

RMN ¹³C: Resonancia magnética nuclear de carbono 13

RMN ¹H: Resonancia magnética nuclear de hidrógeno

SFB: Suero fetal bovino

SKUL: Línea celular de cáncer de pulmón

SFB: Sulforrodamina B

TBARS: Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico

TPA: 13-Acetato de 12-O-tetradecanoilforbol

U-251: Línea celular de cáncer de sistema nervioso central



I. RESUMEN

Neolloydia conoidea es una cactácea conocida como biznaga cónica, cactus cónico o colmena de Chihuahua, la cual crece en las zonas áridas del norte de México, principalmente.

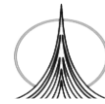
Estudios fitoquímicos realizados previamente en otra especie del mismo género (*N. texensis*), informan la presencia de un triterpeno llamado ocotillo-I y dos glicósidos: androsina y neolloydosina. La hidrólisis de éste último produjo acetovainillona, xilosa y primaverosa.

En la presente tesis se dan a conocer los resultados del estudio químico de *N. conoidea*. Así mismo, se informa las actividades antiinflamatorias, citotóxicas y antioxidantes del extracto orgánico y de los metabolitos secundarios mayoritarios aislados en esta especie.

El estudio químico del extracto de CH₂Cl₂-MeOH de toda la planta, permitió el aislamiento de 4 compuestos: Acetovainillona, 1-(3,4-dimetoxifenil)-3-hidroxiopropanona, 1,6- diferuloil-glucosa y por previa acetilación el hexaacetato de neolloydosina.

Por otro lado, el extracto en estudio no inhibió de manera significativa el crecimiento de líneas celulares de cáncer humano; sin embargo, presentó actividad antiinflamatoria (modelo de TPA), actividad antioxidante (modelo TBARS) y actividad atrapadora de radicales libres (DPPH).

Con respecto a los metabolitos secundarios aislados, se observó que la acetovainillona inhibió el crecimiento de la línea celular MCF-7, en un 54.02%. La 1,6-diferuloil-glucosa inhibió el crecimiento de las líneas celulares MCF-7, K-562 y U-251 en un 72.9%, 44.9% y 48.43% respectivamente. La acetovainillona y la 1,6-diferuloil-glucosa presentaron actividad antiinflamatoria significativa en el modelo de edema inducido en oreja de ratón por TPA. Finalmente, sólo la 1,6-diferuloil-glucosa presentó actividad antioxidante y atrapadora de radicales libres.



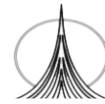
II. INTRODUCCIÓN

Desde el inicio de la humanidad, diversas especies vegetales han sido utilizadas para su desarrollo como alimento, para el tratamiento de enfermedades y como abrigo (Anderson *et al.*, 2001). De acuerdo con datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), más del 80% de la población mundial depende principalmente del uso de las plantas medicinales silvestres (Hersch-Martínez, 1995).

La ubicación geográfica del territorio mexicano ha privilegiado el desarrollo de una amplia variedad de especies vegetales (Rzedowski, 1978). Indiscutiblemente ésta riqueza ha influido en el desarrollo de la medicina tradicional. Por ejemplo, es conocido que los antiguos habitantes de México conocían las propiedades terapéuticas de un gran número de plantas, conocimientos que han sido heredados hasta nuestros días. No obstante la amplia variedad de la flora utilizada en la medicina tradicional posee estudios botánicos y farmacológicos muy escasos. Se estima que en México el 15% de la flora total posee algún atributo medicinal (4,000 especies), lo que implica que una de cada siete especies posee alguna propiedad curativa (Ocegueda *et al.*, 2005).

La familia Cactaceae ha sido utilizada en la medicina tradicional desde la época prehispánica. En la actualidad, el estudio de algunas especies de esta familia ha permitido el aislamiento de metabolitos secundarios con actividad citotóxica en líneas de cáncer humano y con propiedades antiinflamatorias. Por ejemplo, el extracto metanólico de *Myrtillocactus geometrizans* (mejor conocido como garambullo) posee actividad antiinflamatoria dependiente de la dosis (Céspedes *et al.*, 2005). El extracto en metanol de *Pereskia bleo*, conocido como palo de puercoespín, es citotóxico para la línea celular de cáncer de mama T-47D (Tan *et al.*, 2005).

Por otro lado, se conoce que algunas cactáceas sintetizan varios tipos de metabolitos secundarios, entre los que se encuentran los triterpenos y los glicósidos de triterpenos (Delgado *et al.*, 2006), los cuales poseen una amplia



gama de acciones biológicas, como la inhibición de tumores mediante la inducción de la apoptosis, convirtiendo a este tipo de metabolitos en agentes potenciales anticancerosos (Harridas *et al.*, 2001; Arroyo *et al.*, 2005; Ze *et al.*, 2006).

El cáncer es uno de los mayores problemas de salud en México y en otros países como Estados Unidos, Canadá, Francia, Japón, en donde cada año se registran nuevos casos de esta enfermedad (American Cancer Society, 2010). En el 2009, para México, el cáncer representó la tercera causa de muerte, después de la *Diabetes mellitus* y las enfermedades cardiovasculares (IMSS, 2010). Por esta razón, es muy importante la búsqueda de nuevas moléculas biológicamente activas, que en un futuro permitirán el diseño de fármacos para el tratamiento y combate del cáncer.

III. MARCO TEÓRICO

3.1 FAMILIA CACTACEAE

Las cactáceas son plantas vasculares dicotiledóneas crasas y perennes de tallos carnosos, cubierto de espinas o pelos (Díaz *et al.*, 2002). Los miembros de esta familia presentan diferentes formas siendo las más comunes la columnar, la esférica, la candelabroforme y la cilíndrica (Bravo, 1978). Otra característica es su longevidad, ya que la mayoría de los individuos crecen muy lentamente, existiendo así ejemplares que llegan a vivir más de 2000 años (Anderson *et al.*, 2001; Bravo, 1937).

La familia Cactaceae se encuentra distribuida en el continente americano tanto en regiones áridas, regiones semiáridas (Anderson *et al.*, 2001) y regiones húmedas de bosques tropicales caducifolios, perennifolios, bosques de pino, encino y bosques mesófilos de montaña (Rzedowski, 1991). Dicha familia se extiende desde Peace River, en el Norte de Canadá a 59° de latitud Norte, hasta la Patagonia en Argentina, a 52° de latitud Sur, y desde el nivel del mar en las dunas costeras, hasta los 5100 metros de altitud en Perú (Bravo y Scheinvar, 1995). En nuestro país esta familia se encuentra distribuida (Figura 1) principalmente en las zonas áridas y semiáridas, particularmente en la porción del sureste del Desierto Chihuahuense, incluyendo la zona árida Querétaro-Hidalguense (Hernández y Godínez, 1994).

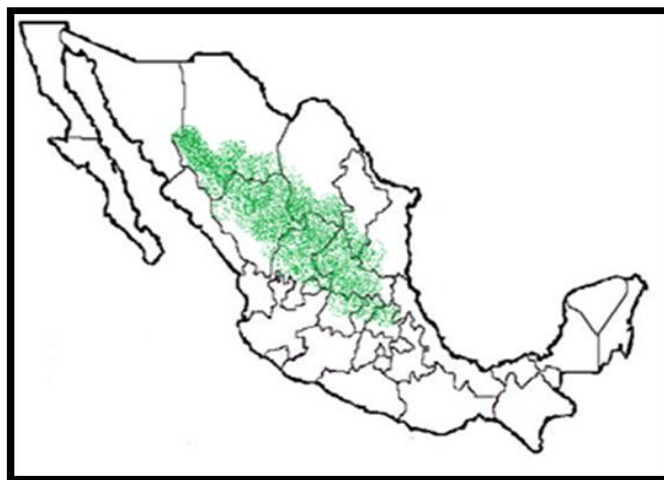
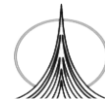


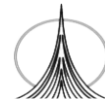
Figura 1. Distribución geográfica de las Cactáceas en México (Hernández y Godínez, 1994).



En México, las cactáceas ocupan el quinto lugar en diversidad con alrededor de 55 géneros y 850 especies (Mandujano *et al.*, 2002). De estos géneros, 15 de ellos están estrictamente restringidos a sus límites territoriales, y 20 más son casi endémicos (Cuadro 1). En este último caso, una o varias de las especies de un género determinado extienden su distribución a áreas adyacentes al territorio mexicano, especialmente en el sureste de los Estados Unidos (por ejemplo *Ariocarpus*, *Astrophytum*, *Bergerocactus*, *Carnegiea*, y *Echinocactus*) (Hunt, 1992).

Cuadro 1. Los géneros de las cactáceas en México (Hunt, 1992).

Género	Endémico	Casi Endémico	No. Total de spp.	No. Total de spp. en México	No. Spp. Endémicas
<i>Acanthocereus</i>			4	1	0
<i>Aporocactus</i>	*		2	2	2
<i>Ariocarpus</i>		*	7	7	6
<i>Astrophytum</i>		*	4	4	3
<i>Aztekium</i>	*		2	2	2
<i>Bergerocactus</i>		*	1	1	0
<i>Carnegiea</i>		*	1	1	0
<i>Cephalocereus</i>	*		3	3	3
<i>Coryphanta</i>		*	41	39	34
<i>Disocactus</i>			10	5	4
<i>Echinocactus</i>		*	6	6	4
<i>Echinocereus</i>		*	49	48	29
<i>Epiphyllum</i>			9	5	2
<i>Epithelantha</i>		*	1	1	0
<i>Escobaria</i>		*	18	11	7
<i>Escontria</i>	*		1	1	1
<i>Ferocactus</i>		*	24	24	19
<i>Geohintonia</i>	*		1	1	1
<i>Heliocereus</i>		*	4	4	1
<i>Hylocereus</i>			12	2	1
<i>Leuchtenbergia</i>	*		1	1	1
<i>Lophophora</i>		*	2	2	1
<i>Mamillaria</i>		*	166	160	150
<i>Melocactus</i>			31	1	0
<i>Myrtillocactus</i>		*	4	3	3
<i>Neobuxbaumia</i>	*		8	8	8
<i>Neolloydia</i>		*	2	2	1
<i>Obregonia</i>	*		1	1	1
<i>Opuntia</i>			164	97	61

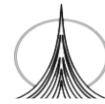


Cuadro 1. Continuación

<i>Opuntia</i>			164	97	61
<i>Ortegocactus</i>	*		1	1	1
<i>Pachycereus</i>		*	12	11	10
<i>Pelecyphora</i>	*		2	2	2
<i>Peniocereus</i>		*	15	14	12
<i>Pereskia</i>			16	2	0
<i>Pereskiaopsis</i>		*	8	8	7
<i>Pilosocereus</i>			35	5	4
<i>Polaskia</i>	*		2	2	2
<i>Pseudorhipsalis</i>			4	1	0
<i>Rathbunia</i>	*		1	1	1
<i>Rhipsalis</i>			25	1	
<i>Sclerocactus</i>			15	7	1
<i>Selenicereus</i>			20	14	9
<i>Stenocactus</i>	*		8	8	8
<i>Stenocereus</i>		*	18	16	13
<i>Strombocactus</i>	*		1	1	1
<i>Thelocactus</i>		*	11	11	9
<i>Turbincarpus</i>	*		14	14	14
<i>Weberocereus</i>			9	1	0

Por otro lado, la familia Cactaceae es una de las más amenazadas del reino vegetal en desaparecer. Las poblaciones naturales de varias especies han sido afectadas por las presiones del desarrollo, principalmente debido a la conversión de terreno para usos agrícolas y/o pecuarios y a las actividades de extracción de las plantas de su hábitat, para su venta como plantas de ornato en mercados nacionales e internacionales (Jarvis, 1979; Fuller y Fitzgerald, 1987).

Considerando que esta familia tiene una habilidad limitada para restablecerse demográficamente después de un evento de perturbación, un número significativo de cactáceas mexicanas se ha incluido en listados de plantas amenazadas (Hernández y Godinez, 1994).



3.2 GÉNERO *Neolloydia*

Neolloydia es uno de varios géneros que fueron definidos entre 1919 a 1923 por Nathaniel Britton y Joseph Rose. El nombre honra a Francis E. Lloyd, un botánico que contribuyó con Britton y Rose en el estudio del cactus, del prefijo *neo* nuevo, porque *Lloydia* se había usado previamente para un lirio (Anderson, 2001).

Varias de las especies que Britton y Rose ubicaron en *Neolloydia* habían sido incluidas en *Mammillaria* por Karl Schumann (1897-1898). El límite pobremente definido de *Neolloydia*, llevó en ese entonces a que más de 30 taxas se incluyeran durante un tiempo; por ejemplo, algunas especies pertenecientes a géneros tan diversos como: *Coryphantha*, *Thelocactus*, *Echinomastus*, *Escobaria*, *Mammillaria*, *Sclenocactus* y *Turbincarpus*.

En 1986, Anderson propuso que los taxa que habían sido incluidos en los géneros *Gymnocactus*, *Normanbokea* y *Turbincarpus* fueran incluidos en *Neolloydia*. Sin embargo, el Grupo Internacional de Sistemática en Cactaceae no adoptó esta propuesta, sino que prefirió aceptar que el género *Turbincarpus* abarcaba todas las especies que Anderson había ubicado en *Neolloydia* con la excepción de *N. conoidea* y otra especie, *N. matehualensis*. Por lo que, actualmente, se considera que el género *Neolloydia* está conformado por dos especies: *N. conoidea* y *N. matehualensis*, las cuales florecen durante la primavera y el verano (Anderson, 2001).

Las plantas de dicho género se caracterizan por ser pequeñas de forma cilíndrica, son espinosas y están provistas de tubérculos, dispuestos en costillas espiriladas. Las espinas radiales son numerosas y ampliamente extendidas. Las espinas centrales son mucho más gruesas que las radicales. Las flores son grandes de color rosa, púrpura o blanco y nacen en la axila de los tubérculos muy jóvenes. El fruto es globoso y de pared delgada, sus semillas son globosas y negras (Bravo, 1937; Anderson, 2001).

3.3 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA Y TAXONOMÍA DE *Neolloydia conoidea*

Especie simple o cespitosa, a veces forma grandes grupos; cada individuo es cortamente cilíndrico, grisáceo, de 7 a 10 centímetros de altura. Presenta tubérculos obtusos dispuestos en 5 a 8 series, y con axilas muy lanosas. Las espinas radicales son delgadas de color blanco de 8 a 10 milímetros de longitud. Las espinas centrales son más largas y robustas que las radicales de 1 a 3 centímetros de longitud de color negro. Las flores que esta especie presenta son de color púrpura, con grandes filamentos amarillos, el estilo y los lóbulos del estigma son del mismo color. El fruto es globoso y comprimido, al principio es de color amarillo oscuro con manchas rojas y después es de color café. Las semillas son de 1 milímetro de diámetro.

Los nombres comunes con los que se le conoce a este cactus son Biznaga cónica, Colmena de Chihuahua y Cactus cónico. El uso de esta especie es principalmente el ornamental. En la figura 2, se muestra la especie en estudio y su taxonomía.



Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Orden: Caryophyllales

Familia: Cactaceae

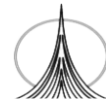
Subfamilia: Cactoideae

Tribu: Cacteae

Género: *Neolloydia*

Especie: *N. conoidea* (DC.) Britton & Rose, 1922

Figura 2. *Neolloydia conoidea* (Konings, 2003; CONABIO, 2010).



3.4 CLASIFICACIONES TAXONÓMICAS ANTERIORES A *N. conoidea*

N. conoidea ha sido clasificada con diferentes nombres que se listan a continuación (Bravo, 1937; Guzmán *et al.*, 2003).

Mammillaria conoidea DC., 1828.

Mammillaria grandiflora Otto ex Pfeiff., 1837.

Mammillaria diaphanacantha Lem, 1838.

Mammillaria inconspicua Scheidw, 1838.

Mammillaria echinocactoides Pfeiff, 1840.

Mammillaria scheeri Mülenpf, 1840.

Mammillaria strobilisformis Engel, 1848.

Mammillaria ceratites Quehl, 1909.

Neolloydia texensis Britton & Rose, 1923.

Neolloydia ceratites (Quehl) Britton & Rose, 1923.

Coryphantha ceratites (Quehl) A. Berger, 1929.

Coryphantha conoidea (DC.) Orcutt ex A. Berger, 1929.

Coryphantha grandiflora (Otto ex Pfeiff.) A. Berger, 1929.

Neolloydia grandiflora (Otto ex Pfeiff.) F.M. Knuth in Backeb. & F.M. Knuth, 1935.

Neolloydia conoidea var. *Ceratites* (Quehl) Kladiwa & Fittkau, 1971.

Neolloydia conoidea var. *Grandiflora* (Otto ex Pfeiff.) Kladiwa & Fittkau in Krainz 1971.

Neolloydia conoidea var. *Texensis* (Britton & Rose) Kladiwa & Fittkau, 1971.

Neolloydia grandiflora var. *Robusta* Riha, 1981.

Pediocactus conoideus (DC.) Halda, 1998.

3.5 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE *N. conoidea*

N. conoidea se distribuye a lo largo del Sur de Texas, Desierto de Chihuahua, Nuevo León, Zacatecas, Tamaulipas, San Luis Potosí, Durango, Coahuila, Aguascalientes, Querétaro y en el Valle del Mezquital en Hidalgo. (Bravo, 1937; Bravo 1978; Anderson, 2001; Guzmán *et al.*, 2003) (Figura 3).

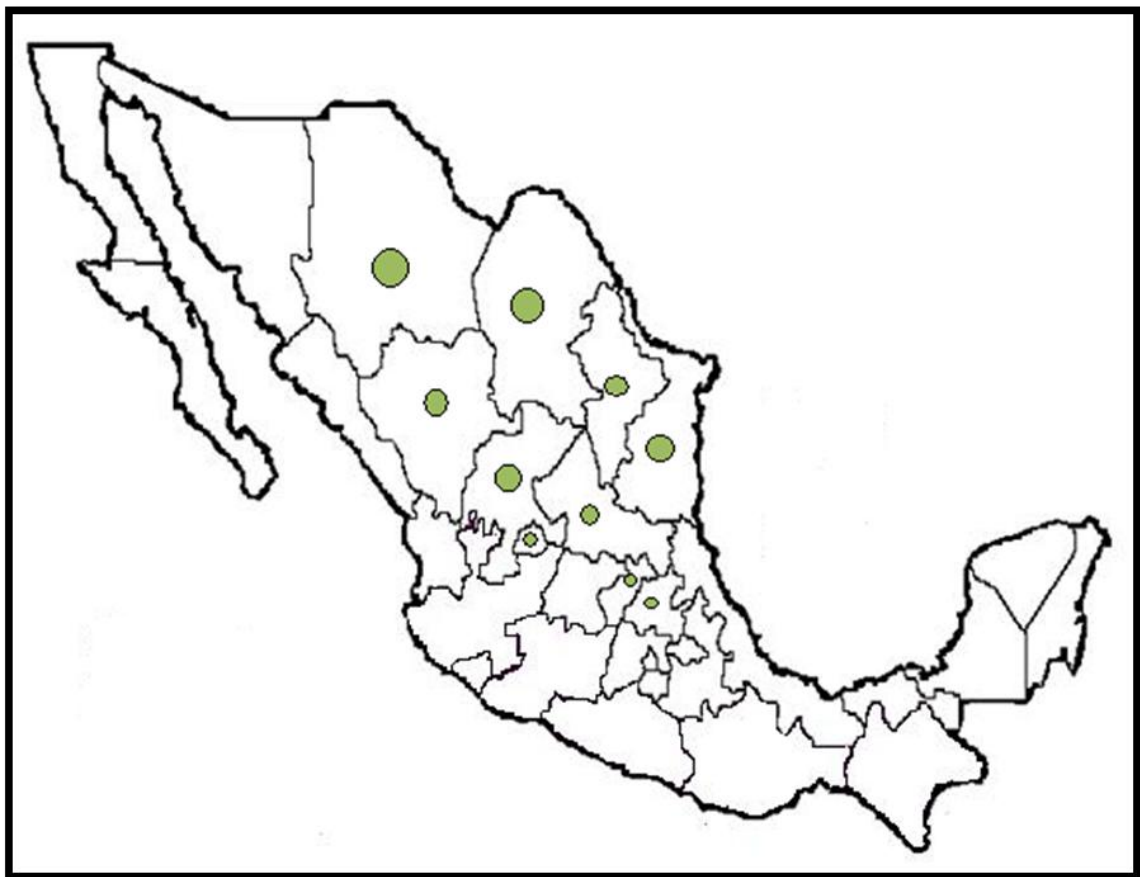
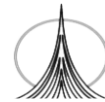


Figura 3. Distribución geográfica de *Neolloydia conoidea* en México (Bravo, 1937; Bravo 1978; Anderson, 2001; Guzmán *et al.*, 2003).



3.6 METABOLITOS SECUNDARIOS

Las plantas sintetizan dos tipos de metabolitos, los metabolitos básicos o primarios y los metabolitos secundarios. Los metabolitos básicos intervienen directamente en los procesos anabólicos y catabólicos requeridos para la respiración, la asimilación de nutrientes y el desarrollo o crecimiento, como ejemplos de ellos son las proteínas, los carbohidratos, los ácidos grasos y los lípidos (Kliebenstein, 2004). Por otro lado, los metabolitos secundarios son compuestos producidos por vías adicionales a las primarias y cuya síntesis se presenta después del crecimiento y en etapas de deficiencia (IUPAC, 1997).

Los metabolitos secundarios presentan las siguientes características:

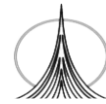
- Gran heterogeneidad de su estructura química
- Su distribución es restringida
- El control estricto de su biogénesis es por medio de la regulación de la cantidad y la actividad de enzimas involucradas
- Son de importancia relativa para la célula que los sintetizan

En la actualidad, se piensa que estos compuestos juegan un papel importante en la supervivencia de las especies vegetales, proporcionando sustancias para su defensa, actuando como repelentes o protección contra condiciones abióticas adversas, interviniendo en la coloración y en obtención de los diferentes aromas en flores y frutos.

Las plantas como parte integral de un ecosistema, también se ven sometidas a factores bióticos y abióticos, y de igual forma ejercen una acción determinada sobre su entorno, lo anterior constituye una ley ecológica. Existe una gran variedad de factores físicos, químicos y biológicos, externos e internos que pueden afectar la producción de metabolitos secundarios

Entre los factores más importantes se encuentran:

- Intensidad de luz



- Fotoperiodo
- Edad y estado fenológico de la planta
- Deficiencias minerales
- Temperatura
- Estrés hídrico
- Compuestos orgánicos presentes en el medio
- Factores genéticos
- Interacciones inter e intraespecíficas
- Contaminantes sintéticos

Los factores anteriores actúan directa o indirectamente sobre las plantas modificando su tiempo y su espacio, creando condiciones complejas, heterogéneas y muchas veces adversas a estos organismos, poniendo en juego sus mecanismos de adaptación, produciendo cambios en la bioquímica básica celular y alterando su metabolismo. Cualquier factor ambiental puede ser limitante o determinante en la síntesis de uno o varios metabolitos secundarios en una planta (Anaya, 2003).

El establecimiento de la biosíntesis de los metabolitos secundarios (Figura 4) es de importancia quimiotaxonómica y ecológica, ya que son la consecuencia metabólica, el momento y las causas que inducen la síntesis en los organismos. En el Cuadro 2, se muestra una clasificación de los principales metabolitos secundarios de acuerdo a su origen biosintético (Mata, 1998).



Cuadro 2. Clasificación de los metabolitos secundarios de acuerdo a su origen biosintético (Mata, 1998)

RUTA METABÓLICA	METABOLITOS SECUNDARIOS
1) Ácido siquímico	Taninos, Lignanós, Cumarinas, Compuestos fenólicos simples, Alcaloides derivados de los aminoácidos triptofano, tirosina, fenilalanina y ácido antranílico, Quinonas, Compuestos C ₆ , C ₆ -C ₁ , C ₆ -C ₂ , C ₆ -C ₃ , Antibióticos.
2) Acetato-malonato	Prostanoides, compuestos aromáticos simples, Quinonas, Isocumarinas, antibióticos diversos (Macrólidos, Tetraciclinas, Antraciclinas, Griseofulvina, etc.), Compuestos acetilénicos.
3) Acetato-mevalonato	Terpenos (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesteterpenos, triterpenos) y Esteroides.
4) Metabolitos derivados de aminoácidos no aromáticos	Alcaloides
5) Combinación de dos o más rutas.	Flavonoides, Furanocumarinas, Piranocumarinas, Plastoquinonas, Ubiquinonas y Cannabinos.

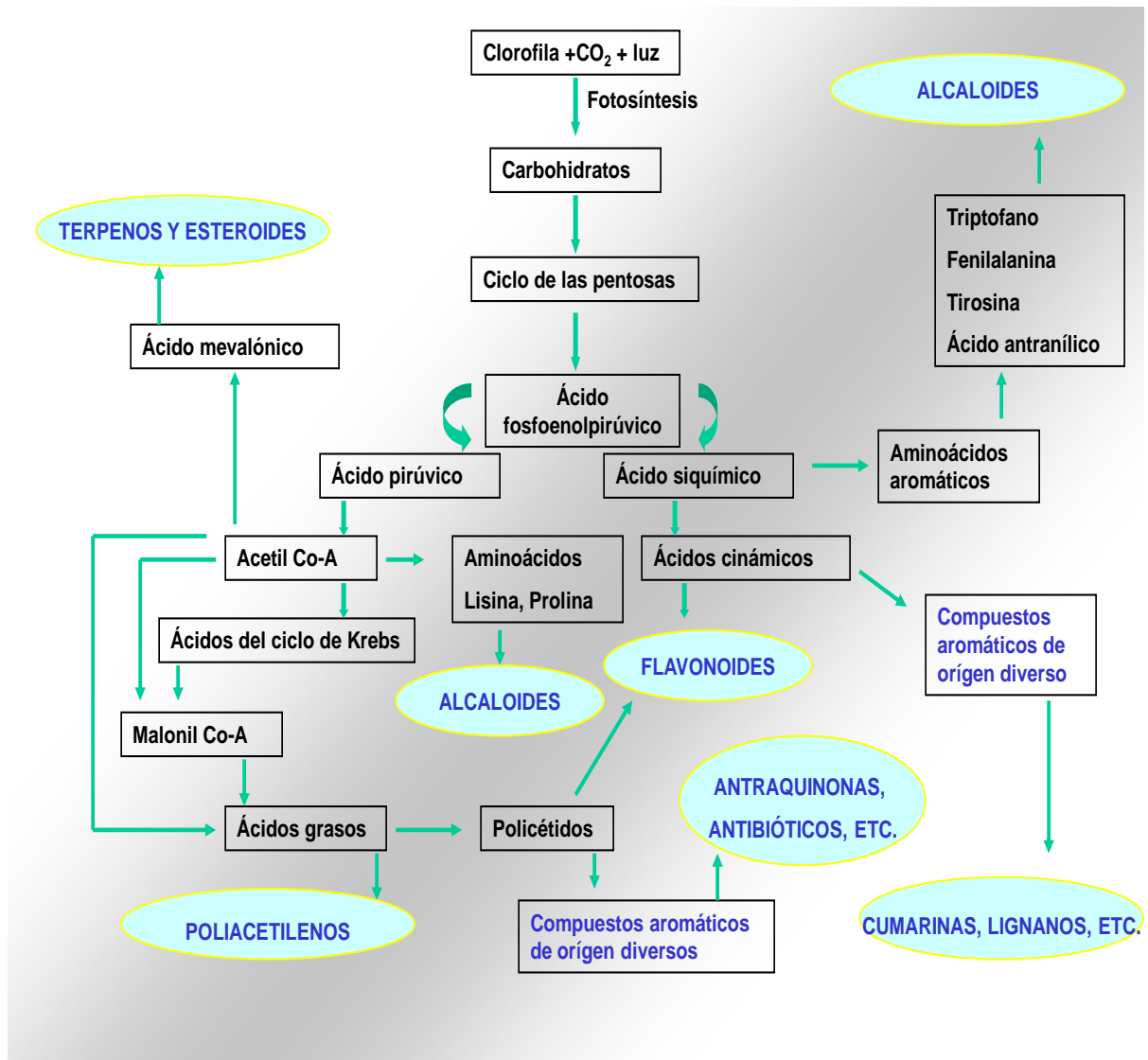
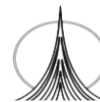


Figura 4. Correlación entre el metabolismo primario y el metabolismo secundario (Mata, 1998).



3.6.1 LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE LAS CACTÁCEAS

Las cactáceas producen una amplia gama de metabolitos secundarios, dentro de estos metabolitos encontramos a los alcaloides, esteroides, triterpenos, flavonoides, entre otros (Bravo, 1978).

Los triterpenos constituyen un numeroso y diverso grupo de metabolitos secundarios, los cuales poseen un esqueleto base de 30 átomos de carbono (seis unidades isopropénicas), y muestra más de 100 esqueletos distintos (Ran *et al.*, 2004). Estos compuestos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, los cuales se encuentran ya sea libres o formando glicósidos (Delgado *et al.*, 2006). Se han propuesto diversos métodos de clasificación de ellos, destaca el que los divide tomando en cuenta el número de anillos que los conforman (acíclicos, tetracíclicos y pentacíclicos). Hoy en día se conocen más de 40 esqueletos triterpénicos básicos que pueden ser agrupados en esta clasificación, y cada año se informa del aislamiento de nuevos triterpenos (Anaya, 2003). Así, por ejemplo la chichipegénina (Figura 5), es un compuesto que fue aislado a partir de *Myrtillocactus geometrizans* cactácea conocida como “garambullo” (Céspedes *et al.*, 2005).

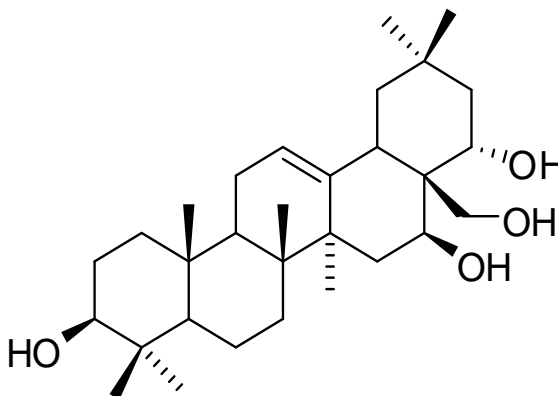


Figura 5. Chichipegénina, triterpeno aislado del garambullo *Myrtillocactus geometrizans* (Céspedes *et al.*, 2005).

Los esteroides son lípidos estructurales que se hallan presentes en la membrana de la mayoría de las células eucarióticas. La estructura característica de estos compuestos es la del núcleo esteroideo, que consiste en cuatro anillos fusionados, tres de ellos con seis carbonos y uno con cinco. Los esteroides de todos los eucariotas se sintetizan a partir de subunidades Isopreno de cinco carbonos, lo mismo que las vitaminas liposolubles, las quinonas y los dolicoles (Nelson y Cox, 2005).

En los animales superiores (incluyendo al hombre), se encuentra principalmente el colesterol, el cual es un constituyente importante de membranas y precursor de sustancias fisiológicamente importantes (hormonas, ácidos biliares, vitamina D, etc.). En las plantas superiores se encuentran principalmente los denominados fitosteroides: β -sitosterol, campesterol y estigmasterol (Teijón *et al.*, 2006; Anaya, 2003). El peniocerol (Figura 6) es un compuesto que fue aislado de *Stenocereus pruinosus* una cactácea columnar comúnmente conocida en México como Pitayo de Octubre (Gama, 2009).

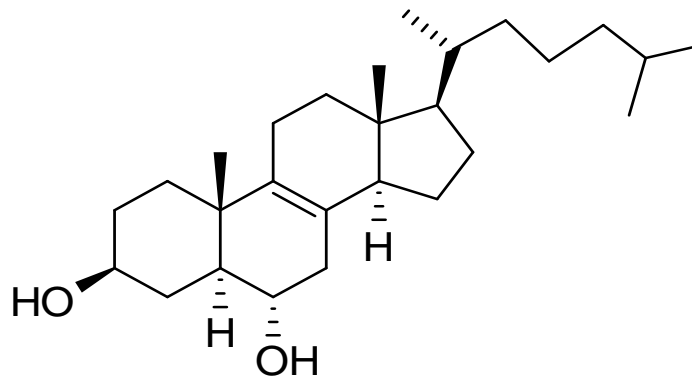
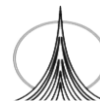


Figura 6. Peniocerol, esteroide presente en *Stenocereus pruinosus* (Gama, 2009).



Los alcaloides son compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno básico y son, en su mayoría de origen vegetal; además, poseen una complejidad molecular moderada y producen diversos efectos fisiológicos en el cuerpo, por lo general toxicidad. La mayoría de ellos son insolubles o muy poco solubles en agua, pero se disuelven bien en alcohol, éter y cloroformo, reaccionan con los ácidos para formar sales.

El nombre alcaloide proviene del hecho de que estas sustancias son similares a los “álcalis”. Actualmente se conocen más de 8,000 compuestos representativos de este grupo de metabolitos secundarios (Anaya, 2003; Gisbert y Villanueva, 2005).

Como ejemplos de alcaloides se muestran en la figura 7 a la weberina y a la peyotina, los cuales fueron aislados de *Pachycereus weberi* comúnmente llamado cardón gigante (Mata y McLaughlin, 1980).

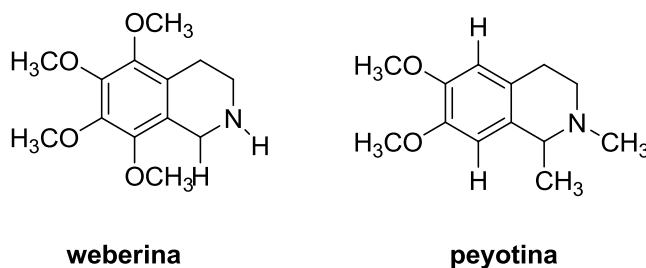


Figura 7. Weberina y Peyotina, alcaloides aislados del cardón gigante *Pachycereus weberi* (Mata y McLaughlin, 1980).

Por otro lado, los flavonoides son metabolitos secundarios de bajo peso molecular, cuya estructura base posee 15 átomos de carbono (Figura 8), con esqueleto $C_6-C_3-C_6$ (Middleton *et al.*, 2000). Este tipo de compuestos constituyen se pueden encontrar distribuidos en la naturaleza tanto en forma de glucósidos como de agliconas. Hasta la fecha, se han identificado más de 9,000 diferentes flavonoides en plantas vasculares y su proporción varía según el tipo de planta, edad, condiciones de crecimiento y ubicación geográfica (Williams y Grayer 2004).

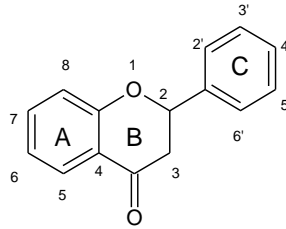


Figura 8. Estructura general de los flavonoides (Middleton *et al.*, 2000).

Los flavonoides se encuentran de forma universal en las plantas vasculares y son muy importantes para el desarrollo y buen funcionamiento de las plantas; por ejemplo, como agentes protectores contra la luz UV o contra la infección de organismos fitopatógenos. Estas moléculas son las responsables de las diferentes coloraciones de las flores, propiedad vital para la especie vegetal, pues sirven como atrayente para los polinizadores. Por consiguiente, estos compuestos ayudan a establecer la relación entre el polinizador y la especie vegetal (Cartaya y Reinaldo, 2001).

En el polen de cuatro especies de cactáceas (*Mammillaria heyderi sensu lato*, *Stenocactus multicostatus* subsp. *zacatecasensis*, *Echinocereus enneacanthus* subsp. *enneacanthus* y *Echinocereus pectinatus* subsp. *enneacanthus*) (Delgado, 2007) se encontraron 2 flavonoides: Quercetina y Canferol (Figura 9).

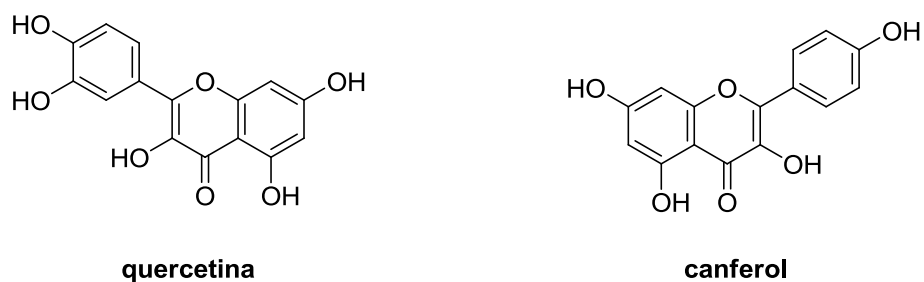
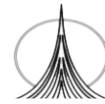


Figura 9. Quercetina y canferol (Delgado, 2007).



3.6.2 ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS

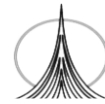
Los metabolitos secundarios juegan un rol muy importante en la terapia y prevención de enfermedades humanas. Los triterpenos son estudiados por sus efectos antiinflamatorios, hepatoprotectores, analgésicos, antimicrobianos, antimicóticos y virostáticos (Dzubak *et al.*, 2006).

Los alcaloides tienen muy importantes antecedentes en el rubro de antiespasmódicos naturales, por ejemplo la atropina, la papaverina y la codeína. Se conoce que a partir del fruto de la cicuta (*Conium maculatum*), se obtenía un veneno antiquísimo empleado en la cacería y para causar la muerte en humanos, el activo es el alcaloide cicutina (Viesca, 1976). Otros ejemplos que muestran la relevancia de los alcaloides en aspectos farmacológicos, son: la cocaína (anestésico local y estimulante cerebral, narcótico en uso prolongado o en grandes dosis), lobelina (en tratamientos para abandonar el hábito de fumar), fisostigmina (inhibidor reversible de la colinesterasa, se usa en tratamientos de glaucoma) y la vincristina (inhibe la mitosis, se usa en el tratamiento de la leucemia linfocítica aguda) (Mata, 2000).

Los flavonoides poseen actividad antiviral, antibiótica, antiinflamatoria y anticancerosa, entre otras. Lo que sugiere que este tipo de metabolitos pueden afectar significativamente la función de múltiples sistemas celulares en mamíferos (Williams y Grayer, 2004).

Existen flavonoides que han sido propuestos para el tratamiento de padecimientos gastrointestinales como úlceras y diarrea aguda (Gálvez *et al.*, 1996). En relación a ello, se sabe de algunos flavonoides con actividad espasmolítica (Van de Broucke y Lemli, 1982).

Por otro lado, los flavonoides poseen propiedades antioxidantes (Gálvez *et al.*, 1993) y pueden modular el metabolismo del ácido araquidónico vía inhibición de ciclooxigenasas y lipooxigenasas (Gálvez *et al.*, 1993). Estudios experimentales realizados *in vitro* han demostrado que algunos flavonoides pueden inhibir y algunas veces inducir, una gran variedad de sistemas enzimáticos. (Middleton y Kandaswami, 1994).



3.7 INFLAMACIÓN

La palabra inflamación deriva del latín “*flamma*” que significa fuego o “*inflammare*”, prenderse o encenderse (Gijón y De Miguel, 1997).

La inflamación es el conjunto de mecanismos involucrados en la respuesta del cuerpo frente a una agresión, encaminados a eliminar al agente agresor y reparar el daño (Rojas, 1988).

Las características de la inflamación, consisten en la presencia de dolor, aumento de temperatura, hinchazón y enrojecimiento en la zona donde esta se desarrolle y habitualmente se desarrolla en tres fases:

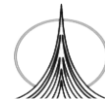
- Respuesta inflamatoria inmediata, relacionada con la causa.
- Ampliación de la respuesta inicial por la acción de mediadores químicos que potencian la reacción vascular.
- Cronificación de la inflamación y/o reparto de tejidos.

Los elementos que intervienen en la inflamación son mediadores químicos, células de la sangre, de otros elementos del plasma, de los tejidos y de los espacios extracelulares (Pardo, 1998).

Cuadro 3. Elementos que intervienen en la reacción inflamatoria (Pardo, 1998).

Mediadores Químicos	Células de la sangre	Células de Tejidos
Aminas Vasoactivas	Neutrófilos Polimorfonucleares	Células mastoideas
Proteasas	Linfocitos	Fibroblastos
Metabolitos del Ácido Araquidónico	Monocitos	Endotelio
Citocinas	Células Plasmáticas	Histocitos
Óxido Nítrico	Plaquetas	Células de Kupffer
Radicales libres	Basófilos	Microglía
Histamina	Eosinófilos	

El proceso de la inflamación es de dos tipos: inflamación aguda e inflamación crónica.



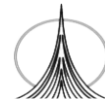
La inflamación aguda, constituye la respuesta inicial a la lesión tisular, causada por factores endógenos (fractura de hueso o necrosis del tejido), y por factores exógenos, los cuales incluyen varios tipos de daños, tales como daños físicos o mecánicos (exposición a sustancias corrosivas), daño biológico (infección por microorganismos) y daño inmunológico (reacciones de hipersensibilidad).

El proceso inflamatorio en su fase aguda se inicia con la liberación local de mediadores que aumentan el flujo sanguíneo de los capilares cercanos e inducen trasvasación de plasma al tejido. Posteriormente, se produce activación de los sistemas de complemento y de coagulación. Asimismo, las células inflamatorias circulantes y las endoteliales liberan mediadores solubles de la inflamación y productos biológicos metabólicamente activos. Estos mediadores también tienen efectos sistemáticos, provocando fiebre, neutrofilia y la respuesta de fase aguda.

En las inmediaciones del sitio de daño, los neutrófilos se acumulan en los capilares y en las vénulas poscapilares, cruzan la capa endotelial y se mueven hacia la fuente de los mediadores inflamatorios. En el sitio de la inflamación, los neutrófilos fagocitan el material extraño, liberan enzimas digestivas, proteínas bactericidas y potentes oxidantes.

Siguiendo a la fase aguda se produce un reclutamiento de monocitos, macrófagos y linfocitos en el sitio de daño. Los monocitos y los macrófagos ingieren y/o matan a los agentes infecciosos o al material extraño que fue resistente a la acción de los neutrófilos. Además, estas células digieren y retiran el tejido dañado que no ha sobrevivido a la respuesta inflamatoria.

Finalmente, se produce la etapa de resolución. Esta comienza cuando las células viables del sitio de inflamación, o cercanas al mismo, comienzan a proliferar con el objeto de restaurar la arquitectura normal del tejido y su función. Según la magnitud y la naturaleza del daño, puede ocurrir retorno a la estructura y función normal de tejido; formación de cicatriz y función tisular alterada; formación de absceso o bien persistencia del proceso inflamatorio (Margini, 1996). La duración de este proceso es corta -minutos, horas o unos pocos días- (Mark *et al.*, 2008).



La falta de una oportuna resolución del proceso inflamatorio por persistencia del antígeno o agente agresor dentro de los tejidos da lugar a la inflamación crónica que llevará irremediablemente al daño permanente de los tejidos, por ejemplo la artritis reumatoide, gota, asma, tuberculosis, linfogranuloma venéreo, entre otras más (Rojas, 1988). La duración de dicho proceso es de semanas, meses o incluso años (Mark *et al.*, 2008).

3.7.1 TERAPÉUTICA DE LA INFLAMACIÓN.

Las estrategias terapéuticas de la inflamación se han abordado considerando la diversidad de mediadores celulares y moleculares. Desde hace algunos años se tenía la esperanza en la manipulación farmacológica de las citocinas pro inflamatorias, como el factor FNT- α ; la interleucinas IL-1, IL-6, IL-8, quimiocinas entre otras; sin embargo, la modulación de estas moléculas no ha solucionado el problema.

El descubrimiento de ciertas citocinas de acción antiinflamatoria (como la IL-4 y la IL-10) ha permitido conocer los mecanismos de acción de algunos fármacos antiinflamatorios. También se ha dirigido la atención hacia las enzimas fosfolipasa A₂, ciclooxigenasa, lipooxigenasa y sintasa de óxido nítrico de activa participación en la inflamación. Los estudios acerca de las isoformas de la COX y la NOS han ampliado las expectativas de encontrar fármacos antiinflamatorios eficaces. Aunque el control terapéutico de la inflamación no se ha logrado por completo y aún es un reto por conquistar, hoy en día en la clínica se utilizan fármacos antiinflamatorios esteroidales y no esteroidales (AINES) (Espinosa *et al.*, 2004).

3.7.2 FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS ESTEROIDALES

Los glucocorticoides (GCs) representan un grupo de sustancias esteroideas de acción antiinflamatoria endógena. Los GCs son hormonas de acción endocrina producidas en la corteza suprarrenal, encargadas en el mantenimiento de la glucemia y la tensión arterial normal. Así mismo, modulan procesos de inmunidad, inflamación y adaptación por el estrés (Borne, 1995; Adcock, 2000; Newton, 2000). Sin embargo, los GCs producen una variedad de efectos secundarios, como la exacerbación de los niveles sanguíneos de glucosa, insulina y lípidos; la inhibición de la acción de la hormona antidiurética, con incremento en la eliminación del agua; la acción mineralocorticoide con retención de sodio y eliminación de potasio y la producción de hipertensión arterial (Espinosa *et al.*, 2004). El cortisol es un glucocorticoide prototipo precursor de fármacos muy activos como la betametasona y la dexametasona (Figura 10). Estos GCs no producen efectos mineralocorticoides (Borne, 1995).

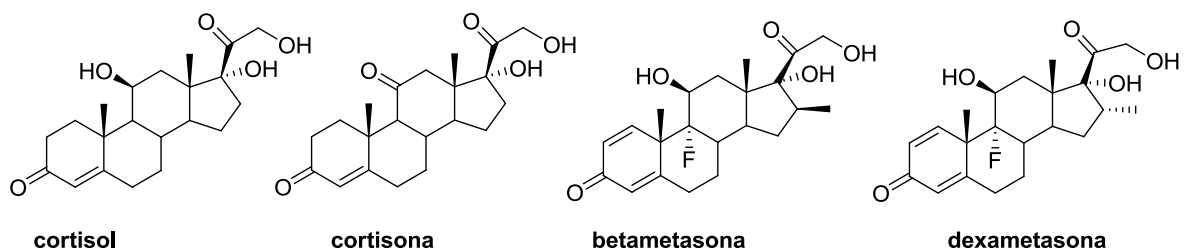
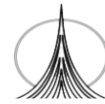


Figura 10. Fármacos antiinflamatorios esteroideos (Borne, 1995).



3.7.3 FARMACOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINES) constituyen un grupo de fármacos químicamente heterogéneo con acciones analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias; a su vez también pueden ser antiagregantes plaquetarios y uricosúricos. Los AINES son ampliamente usados en la terapéutica general, incluyendo patologías del aparato locomotor como artrosis, artritis reumatoide, trastornos músculo-esqueléticos; así como fiebre, cólicos nefríticos y biliares, cefaleas, dismenorrea, traumatismos, entre otras.

El mecanismo de acción principal de los AINES clásicos consiste en la inhibición de la COX. Sin embargo, se han asociado con complicaciones como la enfermedad ulcerosa peptídica, la hemorragia digestiva y la insuficiencia renal (Espinosa, *et al.*, 2004). Dependiendo de su selectividad por las isoformas de COX, los AINES se han clasificado en cuatro grupos: a) selectivos a COX-1, se incluye solamente la aspirina, en dosis bajas; b) no selectivos a COX, abarcan los fármacos AINES clásicos como el ibuprofeno, indometacina, piroxicam, entre otros; c) selectivos moderadamente a COX-2, como salicilatos y *meloxicam*; y d) muy selectivos a COX-2, como *Celecoxib* y *Rofecoxib* (Figura 11). *Celecoxib* (Celebrex, G.D, Searle & Co., Chicago, Illinois) y *Rofecoxib* (Vioxx, Merck & Co., Inc., West Point, Pennsylvania) están disponibles para uso en los Estados Unidos en pacientes con osteoartritis. *Celecoxib* es además aprobado para el tratamiento de la artritis reumatoide, y *rofecoxib* aprobado para el dolor agudo y el dolor menstrual (Feldman y McMahon, 2000).

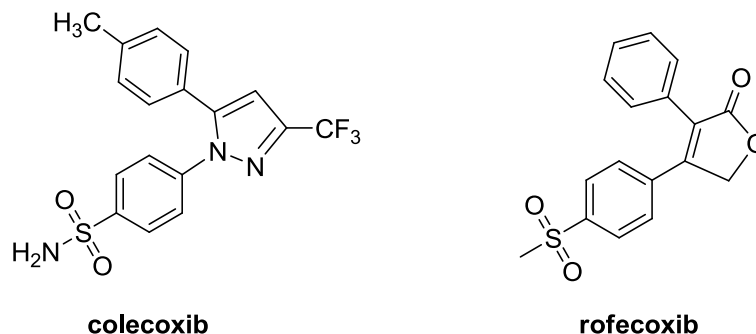


Figura 11. Fármacos antiinflamatorios no esteroideos (Feldman y McMahon, 2000).

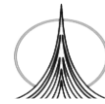


3.8 CÁNCER

Se puede entender al cáncer como un proceso de crecimiento tisular producido por la proliferación continua de células anormales con capacidad de invasión y destrucción de otros tejidos. Existen más de 100 tipos diferentes de cáncer y se clasifican en función del tejido y célula de origen (American Cancer Society, 2010).

Existen dos tipos de factores que se les atribuye la responsabilidad de desarrollar algún tipo de cáncer; estos factores pueden ser clasificados como exógenos y endógenos. El primer grupo incluye agentes físicos (radiación), compuestos químicos, hábitos nutricionales y agentes biológicos (virus). Los factores endógenos incluyen predisposición genética, edad, hormonas y daño del sistema inmune e inflamación (Gutiérrez y Salsamendi, 2001).

En todos los casos, el cáncer deriva en tumores malignos que se clasifican de manera general en sarcomas, carcinomas y leucemias dependiendo del tejido en donde se origine. Por otro lado, una neoplasia es una masa anormal de tejido que no está coordinado por los mecanismos reguladores normales cuyo crecimiento excede al tejido normal. Adicionalmente, varios tipos de neoplasia persisten, aunque haya finalizado el estímulo que suscitó su alteración. De manera formal, una neoplasia no constituye un cáncer hasta que presente metástasis. Las neoplasias malignas tienen la capacidad de sufrir metástasis y formar tumores secundarios (Katzung, 1999).



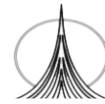
3.8.1 RELACIÓN CÁNCER-INFLAMACIÓN

La relación entre la inflamación y el cáncer no es nueva, en 1863 se creía que el origen del cáncer estaba en sitios de inflamación crónica (Flores y Martínez, 2008). Actualmente se sabe que la inflamación juega un papel importante en la aparición y progresión de una amplia variedad de enfermedades, incluyendo el cáncer. Si bien la inflamación aguda es parte de la respuesta de defensa, la inflamación crónica puede dar lugar a cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares, pulmonares y neurológicas.

La inflamación crónica se ha relacionado con diversos pasos involucrados en la tumorigénesis, como son: la transformación celular, la promoción, proliferación, invasión, angiogénesis y metástasis. La inflamación es un factor de riesgo bien conocido para muchos tipos de cáncer, como se muestra en el cuadro 4.

Cuadro 4. La inflamación como factor de riesgo para el desarrollo del cáncer (Sánchez, 2009).

Inductor	Inflamación	Cáncer	Porcentaje de predisposición a progresión de cáncer
Humo de Tabaco	Bronquitis	Cáncer de Pulmón	11-24
<i>Helicobacter pylori</i>	Gastritis	Cáncer de Estómago	1-3
Virus de Papiloma Humano	Cervicitis	Cáncer cérvico uterino	<1
Fibras de Asbesto	Asbestosis	Mesoteloma	10-15
Tabaco y Alcohol	Esofagitis	Cáncer de Esófago	15



En el proceso de inflamación, las ciclooxigenasas (COX) son enzimas clave que catalizan la conversión del ácido araquidónico a prostaglandinas y tromboxanos. Existen dos tipos de ciclooxigenasas COX-1 y COX-2. Muy recientemente su papel en la carcinogénesis ha sido más evidente, pues estas isoformas parecen influir en la apoptosis, la angiogénesis y en la producción de carcinógenos.

La enzima COX-1 es expresada constitutivamente en la mayoría de los tejidos y juega un papel importante en la producción de prostaglandinas que controla procesos fisiológicos normales. Por otro lado, la enzima COX-2 está presente en el sistema nervioso central, riñones y vesículas seminales y es inducida por varios factores: inflamación, estimulación mitogénica, factores de crecimiento (EGF, PDGF), citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-2, TNF), entre otros. Estudios *in vitro* han demostrado el posible rol de los inhibidores de COX como un singular agente para prevenir la aparición de tumores. En contraste, largos estudios epidemiológicos, diseñados para otros propósitos han mostrado que los inhibidores COX o fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINES), como la aspirina, podrían tener una influencia benéfica en disminuir el desarrollo y crecimiento de malignidades (Méric *et al.*, 2006).

3.9 ANTECEDENTES QUÍMICOS DEL GÉNERO *Neolloydia*

Domínguez y colaboradores (1967 y 1970) aislaron de *N. texensis* cuatro metabolitos secundarios: un fitosterol llamado β -sitosterol, un triterpeno que identificaron como Ocotillo-I y dos glicósidos: Androsina, y el otro hasta entonces desconocido, al que nombraron Neolloydosina (Figura 12).

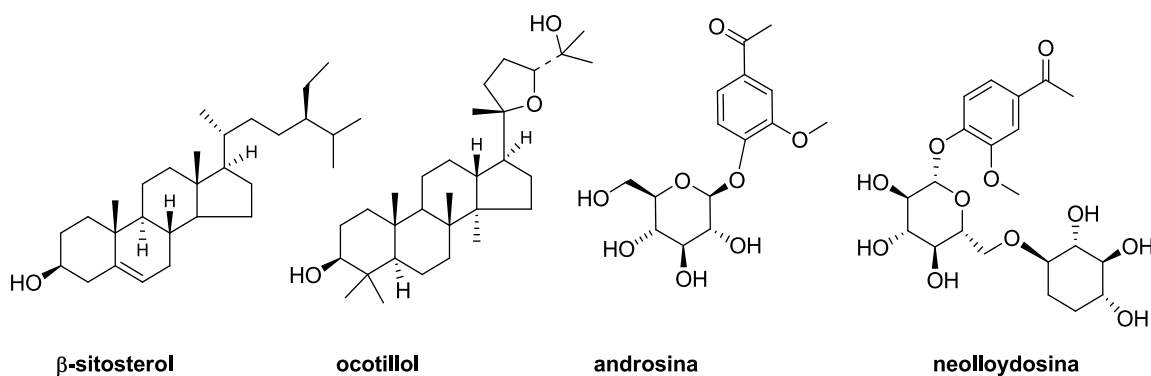
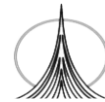


Figura 12. Metabolitos secundarios aislados de *N. texensis* (Domínguez *et al.*, 1967; Domínguez *et al.*, 1970).

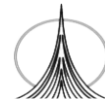


3.10 ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE *N. texensis*

El ocotillo-I es un triterpeno que fue aislado previamente en *Fouquieria splendens* (Domínguez *et al.*, 1967), y que se encuentra también en *Panax vietnamensis* y *Nerium oleander*. Este compuesto inhibe la activación del antígeno primario del virus Epstein-Barr en un modelo de TPA sobre células Raji (Konoshima *et al.*, 1998) y además presenta actividad citotóxica en línea celular de cáncer de pulmón (VA-13), y en fibroblastos del mismo tejido (WI-38) (Fu *et al.*, 2005).

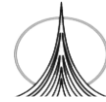
Por su parte, el β -sitosterol se encuentra en la mayoría de las plantas superiores (Harbone and Baxter, 1995), e inhibe el crecimiento de la línea celular cáncer de colon (HT-29) a una concentración de 8-16 μM (Awad *et al.*, 1996).

Aunque se desconocen los efectos biológicos de la androsina y de la neolloydosina, se sabe que la acetovainillona, obtenida a partir de la primera, posee diferentes propiedades, inhibe la actividad enzimática de la mieloperoxidasa, asociada con procesos de inflamación, y reduce el número de macrófagos y leucocitos polimorfonucleares en el colon (Palmen *et al.*, 1995). Por otro lado, dicho compuesto previene la obstrucción bronquial en cerdos de Guinea, y se ha postulado que su cualidad antiasmática está relacionada a la interferencia de ciertos procesos inflamatorios (Van den Worm *et al.*, 2001).



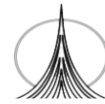
4. HIPÓTESIS

Tomando en cuenta los estudios previos de la especie *N. texensis* donde se ha informado la presencia de metabolitos secundarios bioactivos, dada la cercanía filogenética, es factible suponer que en el extracto orgánico y los metabolitos secundarios de *N. conoidea* presenten actividades antiinflamatorias, citotóxicas, atrapadoras de radicales libres y antioxidantes.



5. JUSTIFICACIÓN

Desde la antigüedad el ser humano ha usado a las plantas como medio de subsistencia. En México, desde la época prehispánica se conoce que diversas especies de la familia Cactaceae han sido utilizadas con fines medicinales, alimenticios, mágico-religiosos y ornamentales; sin embargo, la información química y farmacológica de las cactáceas es restringida, entre ellas podemos citar al género *Neolloydia*. Tomando en cuenta lo anterior, en este proyecto se propone realizar el estudio químico, así como determinar la actividad antiinflamatoria y citotóxica de un extracto orgánico y de los metabolitos secundarios mayoritarios, provenientes de *N. conoidea*.



6. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar el estudio químico y evaluar las propiedades antiinflamatorias, citotóxicas, antioxidantes y atrapadora de radicales libres de un extracto orgánico de *Neolloydia conoidea*, así como de sus metabolitos secundarios mayoritarios.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Obtener el extracto de CH₂Cl₂-MeOH de *N. conoidea*.
- Aislar, purificar e identificar los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en el extracto de CH₂Cl₂-MeOH de *N. conoidea*.
- Evaluar la actividad citotóxica, antiinflamatoria, atrapadora de radicales libres y actividad antioxidante del extracto de CH₂Cl₂-MeOH de *N. conoidea*.
- Evaluar la actividad citotóxica, antiinflamatoria, atrapadora de radicales libres y actividad antioxidante de los metabolitos secundarios mayoritarios aislados del extracto de CH₂Cl₂-MeOH de *N. conoidea*.



7. MATERIALES Y MÉTODO

Para alcanzar los objetivos planteados en el presente trabajo, éste se dividió en dos partes, la primera fue el estudio fitoquímico de *Neolloydia conoidea* en donde se elaboró el extracto de CH₂Cl₂-MeOH, el aislamiento, purificación e identificación de los metabolitos secundarios mayoritarios contenidos en esta especie. En la segunda etapa se determinó la actividad citotóxica, antiinflamatoria, atrapadora de radicales libres y actividad antioxidante del extracto de CH₂Cl₂-MeOH y de los metabolitos mayoritarios aislados.

7.1 ESTUDIO FITOQUÍMICO

La especie *Neolloydia conoidea* se recolectó en Nuevo León y se colocó en papel periódico para su transporte al laboratorio. Tanto la recolección como la identificación de la especie fueron realizadas por la Dra. Teresa Terrazas del Instituto de Biología de la UNAM. El material vegetal se deshidrató, se molió en un molino de mano y se maceró de forma exhaustiva en una mezcla de CH₂Cl₂-MeOH (1:1) a temperatura ambiente. El macerado se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida en un rotavapor.

El estudio químico del extracto orgánico se llevó a cabo mediante cromatografía en columna abierta a presión reducida, empleando como fase estacionaria gel de sílice (MN-Kieselgel G. MACHEREY-NAGEL GMBH & Co. KG Alemania) y se emplearon como eluyentes mezclas de polaridad ascendente (hexano, acetato de etilo y metanol). Las fracciones recolectadas durante el proceso de separación fueron analizadas por cromatografía en capa fina (CCF).

Los compuestos obtenidos fueron purificados por cristalizaciones sucesivas y su identificación se realizó mediante las técnicas espectroscópicas convencionales (infrarrojo, resonancia magnética nuclear (¹H, ¹³C) y espectrometría de masas) (Gamma, 2009; Sánchez, 2009).



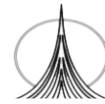
7.2 ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO

Los espectros en el infrarrojo (IR), se obtuvieron en un espectrofotómetro Nicolet Magna IR Spectofotometer 750 en pastilla de KBr y en disolución (CHCl_3) con 1 mg de muestra, las absorciones se informan en cm^{-1} .

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear RMN ^1H (300 MHz y 500 MHz) y de RMN ^{13}C (75.43 MHz y 125.7 MHz), se obtuvieron en espectrómetros analíticos Varian VXR-300S y Varian VXR-500S.

Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en partes por millón (ppm), las señales se indican de la siguiente manera: s = singulete, d = doblete, dd = doble doblete, t = triplete, c = cuarteto, m = multiplete y a = señal ancha, las constantes de acoplamiento (J) se dan en Hertz (Hz).

El análisis por espectrometría de masas, mediante la técnica de impacto electrónico (EM), se llevo a cabo en equipos Hewlett-Packard modelo 5945 A y JEOL AX505HA (Gama, 2009; Sánchez, 2009).



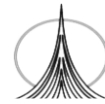
7.3 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA

La determinación de la actividad citotóxica se realizó mediante el ensayo colorimétrico con sulforrodamina B (SRB), el cual permite calcular un índice de inhibición del crecimiento celular y por lo tanto la capacidad citotóxica de una sustancia de prueba. En este ensayo colorimétrico se estima indirectamente el crecimiento celular a través de la determinación de proteínas celulares totales, a las cuales se une la sulforrodamina B. La citotoxicidad en líneas tumorales se determina siguiendo los protocolos establecidos por el Instituto Nacional de Cáncer (USA) (Monks *et al.*, 1991) en las líneas celulares humanas: leucemia (K-562), sistema nervioso central (U-251), cáncer de próstata (PC-3), cáncer de mama (MCF-7) y cáncer de colon (HCT-15). El procedimiento consiste en evaluar los compuestos a una concentración y si fueron activos, posteriormente realizar curvas concentración respuesta que permitan determinar concentraciones inhibitorias medias.

Las líneas celulares empleadas fueron cultivadas en medio de cultivo RPMI-1640 con 10% de suero fetal bovino (SFB) y 2 μM de glutamina. Todos los cultivos se incubaron en una atmósfera de 5% de CO_2 , a una temperatura de 37°C y un ambiente saturado de humedad. Posteriormente para preparar e inocular las células, se debieron éstas de remover de los frascos de cultivo con 2-3 mL de solución tripsina-etilen-diamino-tetra-acético (EDTA) al 0.05%. Después fue inactivada la tripsina con 10 mL de medio RPMI-1640 al 5% de Suero Fetal Bovino (SFB). Se procedió a determinar la viabilidad y la densidad de las células mediante el método de exclusión con azul triptano. Después se realizó el conteo de las células, se procedió a realizar una dilución para obtener una densidad adecuada para cada línea.

La suspensión celular se sembró en placas de 96 pozos. Todas las líneas celulares fueron incubadas por un período de 24 h a 37°C antes de adicionar los compuestos a evaluar.

Tanto el extracto orgánico como los metabolitos secundarios aislados de *Neolloydia conoidea* se solubilizaron en dimetilsulfóxido (DMSO) para que fueran evaluados en una concentración de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Esta concentración es la recomendada por el Instituto Nacional de Cáncer de Estados Unidos (INC) para



este modelo. Inmediatamente después, se agregó 100 μL de la solución a cada uno de los pozos en la placa de fondo plano de 96 pozos, obteniendo un volumen total de 200 μL . Se usó como control negativo diferentes concentraciones de DMSO. Los cultivos se incubaron por un período de 48 h a 37 °C en una atmósfera de 5% de CO₂ y 100% de humedad.

Transcurridas 48 horas, los cultivos celulares fueron fijadas *in situ* adicionado 50 μL ácido tricloroacético (ATC) frío (50% p/v), los cultivos se incubaron por 60 minutos a 4 °C. Cumplido ese tiempo se desechó el sobrenadante y los cultivos se lavaron cinco veces con agua desionizada y se dejaron secar por 24 h. Posteriormente se adicionó a los pozos 100 μL de SRB (0.4% m/v en ácido acético al 1%), se incubó durante 10 minutos a temperatura ambiente, y el exceso de SRB se removió lavando cinco veces con ácido acético al 1%, se dejó secar por 24 h.

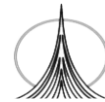
Finalmente, las células teñidas con el colorante, fueron solubilizadas con buffer Tris y la densidad óptica (DO) fue cuantificada en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 515 nm. La citotoxicidad es reportada como el porcentaje de inhibición del crecimiento celular y se determinó de acuerdo a la siguiente expresión:

% de Inhibición del crecimiento celular = $100 - (\text{DO}(\text{muestra})/\text{DO}(\text{vehículo})) * 100$
(Gamma, 2009; Sánchez, 2009).

7.4 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

El método que se empleó para la evaluación de la actividad inflamatoria fue el modelo de edema agudo inducido por 13-acetato de 12-O-tetradecanoil forbol (TPA) en oreja de ratón (De Young *et al.*, 1989). Este ensayo se caracteriza por inducir una respuesta de inflamación local (la formación de un edema) con la aplicación de TPA en el pabellón auditivo del ratón. La inhibición del mismo, es un indicativo del efecto antiinflamatorio del compuesto que se evalúa (Oviedo, 2007).

Se usaron ratones machos (cepa CD1, de 20 a 25 g) los cuales fueron pesados y separados al azar en grupos de tres: un grupo control y dos grupos tratados.



Cada grupo se anestesió por vía intraperitoneal con pentobarbital sódico a una dosis de 0.1 mL de pentobarbital por cada 10 g de peso del ratón. En los tres grupos la solución etanólica de TPA (25 µg/mL) fue aplicada tópicamente sobre la superficie posterior e inferior de la oreja derecha del ratón (10 µL x cada lado) para inducir la inflamación. Posteriormente a los tres grupos se les aplicó 10 µL de etanol en la superficie posterior e inferior de la oreja izquierda, diez minutos después de la aplicación del TPA, a los grupos tratados se les aplicó 20 µL de la sustancia en estudio disueltas en el vehículo (disolvente en el cual se solubilizaban las sustancias en estudio) a una dosis de 1.0 µM / oreja para los extractos, mientras que para los compuestos purificados la dosis fue de 0.31 µM / oreja en ambas caras de la oreja derecha, y en la oreja izquierda solo se aplicó 20 µL del vehículo.

Cuatro horas después, cada grupo fue sacrificado por dislocación cervical, fueron tomadas las biopsias de cada oreja con un sacabocados de 7 mm de diámetro. 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 con la siguiente ecuación:

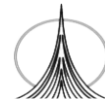
$$\% \text{ Inhibición} = 100 - [(\text{media del tratado} / \text{media del control}) 100]$$

Análisis estadístico: Los resultados fueron analizados mediante la prueba de *t* de *Student* y de Dunnet, utilizando el programa Sigma-Stat 2.0. El nivel de significancia en todos los análisis fueron de $p < 0.05$ (Gamma, 2009; Sánchez, 2009).

7.5 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ATRAPADORA DE RADICALES LIBRES MEDIANTE EL ENSAYO CON DPPH

El método del radical libre DPPH se basa en la transformación de el radical libre estable 1,1-difenil-2-picril hidrazil (DPPH) a α , α -difenil- β -picril hidrazina mediante compuestos atrapadores de radicales libres potencialmente antioxidantes (Cottele, *et al.*, 1996).

El ensayo de DPPH fue realizado esencialmente conforme al método modificado de Cottele. La mezcla de reacción contenía muestras de prueba a diferentes concentraciones en DMSO y 100mM de solución DPPH -etanol en una



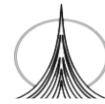
placa de 96 pozos, se incubó a 37°C, por 30 minutos, y posteriormente las absorbancias fueron medidas a 515 nm en un microplaca de lectura Elx 808. Las mediciones fueron realizadas por triplicado.

El porcentaje de inhibición fue analizado mediante un análisis de varianza. Las comparaciones estadísticas fueron hechas entre el grupo control y los grupos experimentales usando la prueba de Dunnet.

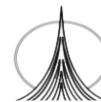
7.6 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE MEDIANTE EL ENSAYO DE LA INHIBICIÓN DE LA PEROXIDACIÓN DE LÍPIDOS DE CEREBRO DE RATA MEDIANTE EL USO DE SUSTANCIAS REACTIVAS AL ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS) CON FeSO_4 10 μM .

Para la elaboración de este ensayo se emplearon ratas wistar (200-250 g), las cuales fueron sacrificados con CO_2 ; el cerebro completo fue rápidamente extraído y homogeneizado como lo describe Rossato y cols.(2002) en buffer salino fosfato (0.2 g KCl, 0.2 g KH_2PO_4 , 8 g NaCl y 2.16 g de $\text{NaHPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ /L, pH = 7.4) para producir una mezcla 1/10 (p/v), la cual fue centrifugada por 10 minutos a 3400 rpm y el sobrenadante fue separado, con el fin de cuantificar las proteínas presentes utilizando el reactivo de Folin y Ciocalteau (Lowry *et al.*, 1951) y ajustando a una concentración de proteína de 2.5 mg/mL con PBS.

Para llevar acabo la peroxidación de lípidos se realizó lo siguiente: El sobrenadante (400 μL , 1mg de proteína) fue incubado a 37°C por 30 minutos en presencia de la muestras a evaluar. La peroxidación fue iniciada al adicionar 50 μL de una solución de Fe_2SO_4 100 μM (Concentración final 10 μM), después fue incubada a 37 °C por 60 minutos. Las TBARS fueron determinadas como describe Ohkawa y cols., (1979) con algunas modificaciones, adicionando 0.5 mL de reactivo de TBA (1% de TBA en NaOH 0.05N y 30% de ácido tricloroacético en una proporción 1:1). La solución final fue congelada en hielo por 10 minutos, posteriormente fue centrifugada a 10,000 rpm por 5 minutos y finalmente incubar a 95°C en un baño de agua durante un periodo de 30 minutos, para posteriormente enfriar con hielo. La absorbancia del respectivo sobrenadante (200 μL) fue cuantificada a 540 nm en un lector de Elisa Bio-Tek Microplate



Reader Elx808. La quercetina y el ácido cafeico fueron usadas como control positivo. La concentración de TBARS fue calculada por interpolación en una curva estándar de tetrametoxipropano (Esterbauer *et al.*, 1990). Los resultados finales fueron expresados como nmoles de TBARS por mg de proteína. El porcentaje de radio inhibición (IR%) fue calculado usando la fórmula siguiente: $IR\% = (C - E / C)(100)$, donde C es la absorbancia control y E es la muestra prueba. Los datos fueron analizados en un ANDEVA, seguida de una prueba de Dunnet.



8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 ESTUDIO QUÍMICO

A partir de 101.65 g de material vegetal deshidratado de *N. conoidea* se obtuvo un extracto de CH₂Cl₂-MeOH (21.85 g, 21.49%) de color verde y de consistencia semisólida. De ese extracto, 18.85 g se emplearon para el estudio químico. Así, como primer paso se analizó mediante cromatografía en columna a vacío y se obtuvieron un total de 171 fracciones de 150 mL cada una (Cuadro 5).

Cuadro 5. Fracciones obtenidas de la columna cromatográfica del extracto orgánico.

Fracción	Eluyente
1	Hexano (100%)
2-20	Hexano- AcOEt (2:1)
21-30	Hexano- AcOEt (1:1)
31-41	Hexano- AcOEt (1:2)
42-44	Hexano- AcOEt (1:3)
45-61	AcOEt (100%)
62-139	AcOEt- MeOH (8:2)
140-156	AcOEt- MeOH (1:1)
157-171	MeOH

A partir de la fracción 5 (cuadro 5), se aisló un sólido verde (38 mg, **A**), por medio de recristalizaciones sucesivas por par de disolventes (CH₂Cl₂/(i-Pr)₂O). Dicho sólido fundió a 103-106 °C y presenta un R_f de 0.26 (Hexano/Acetato de etilo, 2:1).

El espectro de IR del sólido **A** (Figura 13), mostró una banda de intensidad mediana a una longitud de onda de 3529.66 cm⁻¹ que corresponde a la vibración O-H, lo que indica que se trata de un alcohol ó fenol. Por otro lado, se observa una señal a 3023.32 cm⁻¹ que corresponde a la vibración (C-H) de tipo aromático. La señal a 1671.18 cm⁻¹ indicó la presencia de un grupo carbonilo (C=O) conjugado. Asimismo, en el espectro de masas se observa un ión con



relación m/z de 166, que corresponde a una fórmula molecular $C_9H_{12}O_8$ (Figura 14).

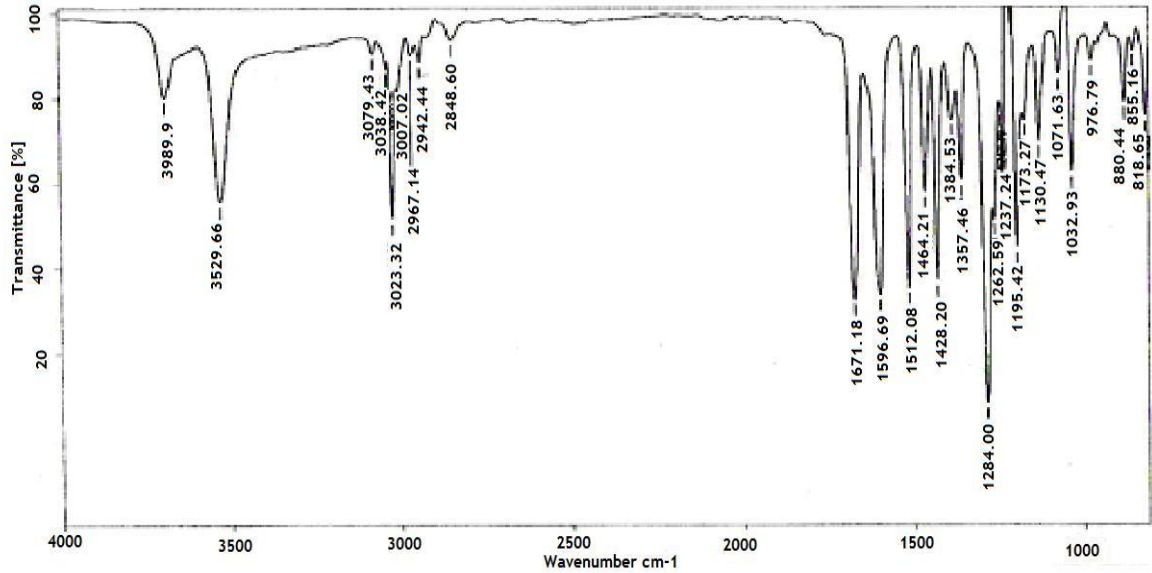


Figura 13. Espectro de IR del sólido A.

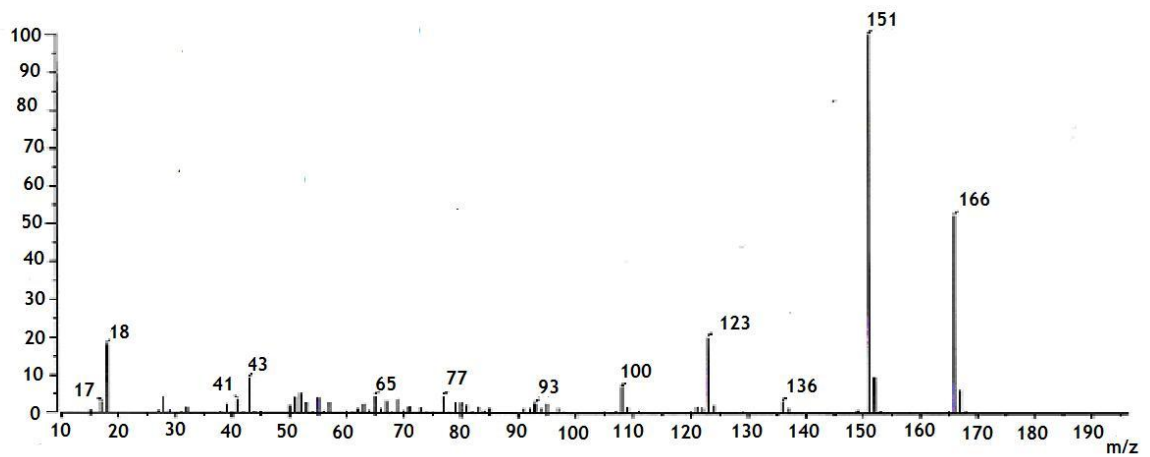
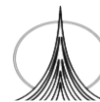


Figura 14. Espectro de masas (IE) del sólido A.



Por otro lado, en el espectro de RMN ^1H (Figura 15) se observa un multiplete a 7.55 ppm que integra para 2 hidrógenos de tipo aromático. Además, a 6.95 ppm se observa una señal doble ($J = 8.7$ Hz) que integra para un hidrógeno aromático. A 6.09 ppm se observa una señal ancha que integra para un hidrógeno. A 2.56 ppm se observa un singulete que integra para tres hidrógenos indicativos de la presencia de una metilcetona. A 3.95 ppm se aprecia un singulete que integra para tres hidrógenos, que indica la presencia de un grupo metoxilo.

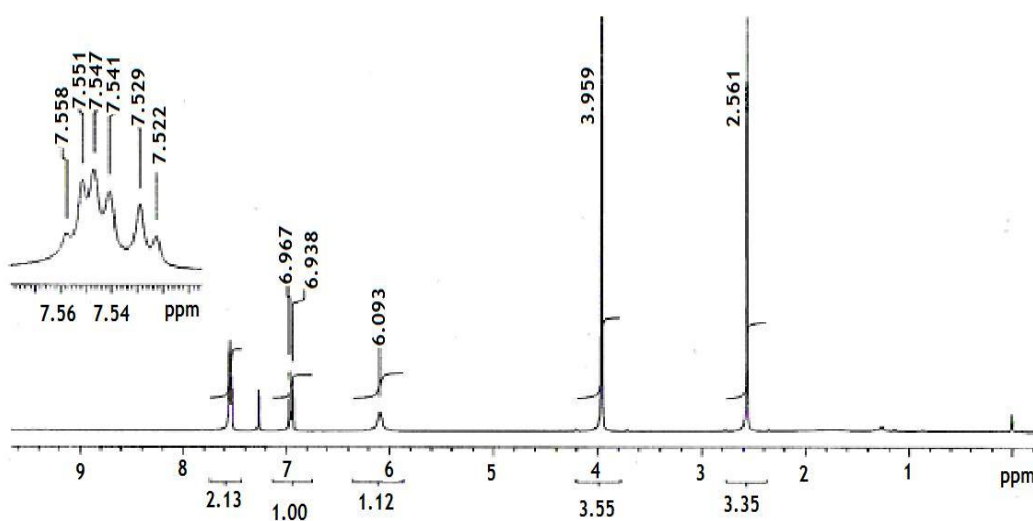
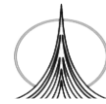


Figura 15. Espectro de RMN ^1H (300 MHz) del sólido A.

En el espectro de RMN ^{13}C (Figura 16) se puede apreciar en total nueve señales. La comparación con el experimento DEPT (Figura 17) permitió asignar la multiplicidad como se indica enseguida, a 196.70 ppm se aprecia una señal que corresponde a un carbonilo (cetona). Las señales a 150.41 ppm, 146.63 ppm y 130.27 ppm corresponden a carbonos aromáticos cuaternarios. Las señales a 109.76 ppm, 113.77 ppm y 123.98 ppm, corresponden a tres carbonos aromáticos (CH). En 56.08 ppm, se observa la señal de un carbono ($\underline{\text{C}}\text{H}_3$)



posiblemente unido a oxígeno (metoxilo). Finalmente, a 26.14 ppm se observa una señal que corresponde a un metilo. Considerando lo anterior, el sólido A se identificó como acetovainillona (Figura 18).

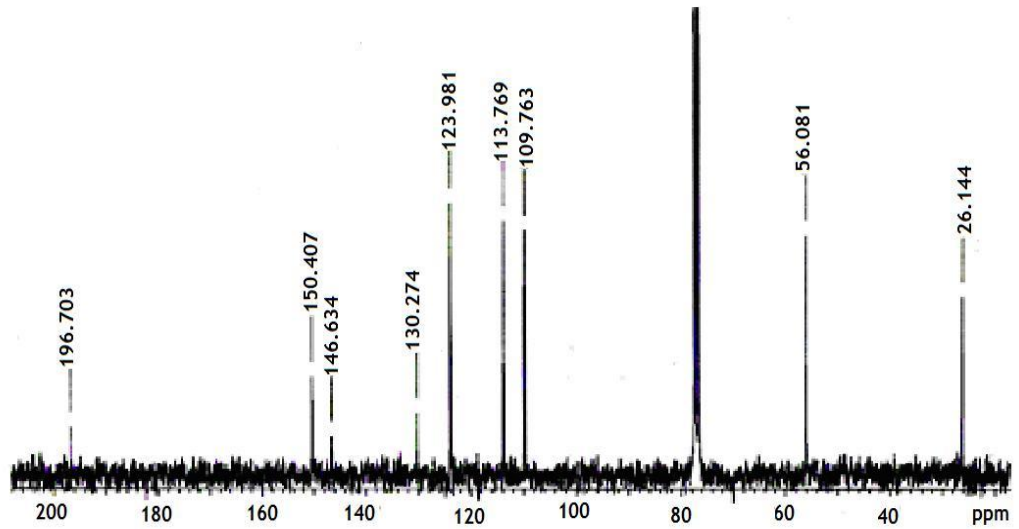


Figura 16. Espectro de RMN ^{13}C (75.43 MHz) del sólido A.

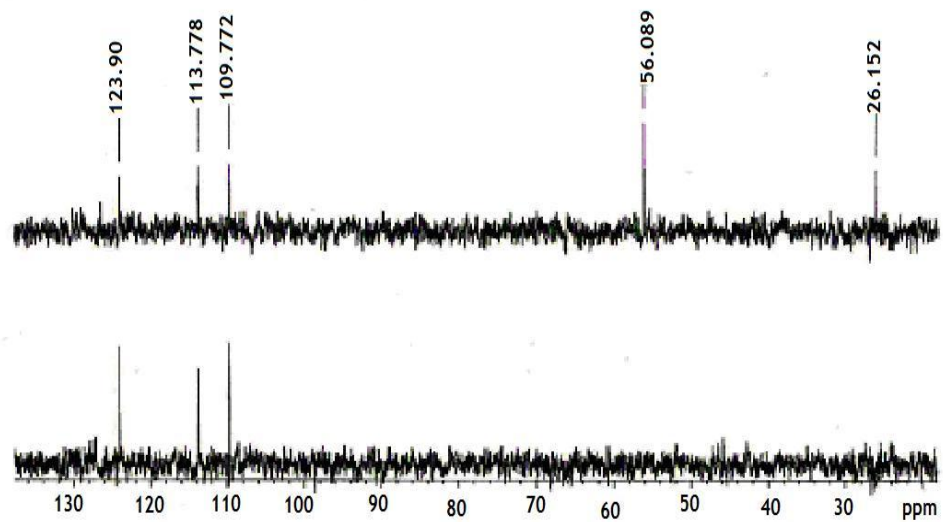


Figura 17. Experimento DEPT del sólido A.

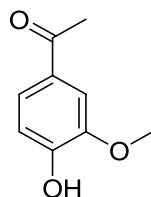


Figura 18. Acetovainillona (sólido A).

Por otro lado, la CCF de las fracciones 19-25 reveló la presencia de dos manchas. La reunión de dichas fracciones se recrystalizó por par de disolventes ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/(i\text{-Pr})_2\text{O}$), para obtener 35 mg de un sólido blanco (B) de $R_f = 0.21$ (Hexano/Acetato de etilo, 2:1).

El espectro de IR del sólido B (Figura 19), mostró dos señales a 3547.77 cm^{-1} , y a 3510.55 cm^{-1} que corresponde a la vibración O-H, lo que indica que se trata de un alcohol ó fenol. Por otro lado, se observan señales de 2946.76 cm^{-1} , 2918.23 cm^{-1} , 2886.86 cm^{-1} y 2847.88 cm^{-1} que corresponden a la vibración (C-H). La señal a 1677.03 cm^{-1} indicó la presencia de un carbono de tipo CO aromático. Finalmente a 1589.41 cm^{-1} y 1512.67 cm^{-1} son señales típicas de anillo aromático.

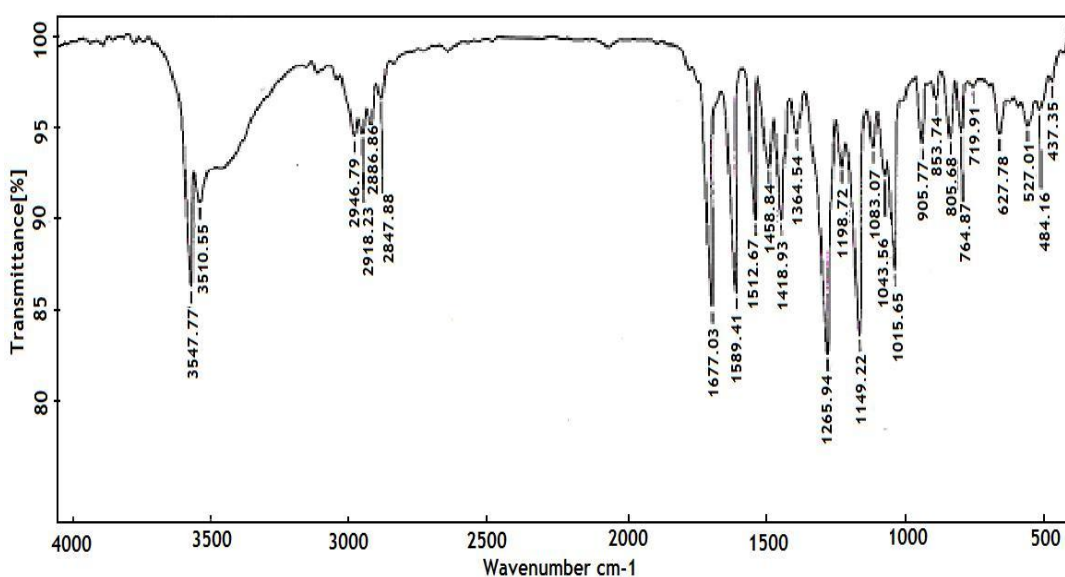


Figura 19. Espectro de IR del sólido B.



La espectrometría de masas por impacto electrónico del sólido **B** (Figura 20) mostró un ión de relación m/z de 210, correspondiente a un compuesto de fórmula $C_{11}H_{14}O_4$.

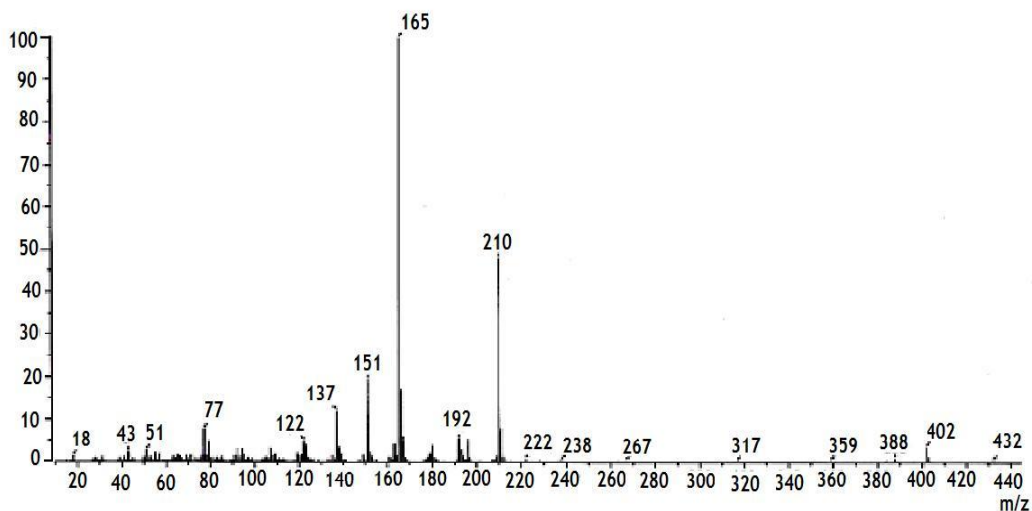


Figura 20. Espectro de masas (IE) del sólido **B**.

En el espectro de RMN 1H (Figura 21) se observa una señal a 7.58 ppm (dd, $J=1.8; 8.4$ Hz) que integra para un protón aromático. Además, se aprecian las señales a 7.52 ppm (d, $J=1.8$ Hz) y 6.89 ppm (d, $J=8.4$ Hz) que integran para dos protones aromáticos. A 4.02 (t, $J=5.4$ Hz) y 3.19 ppm (t, $J=5.4$ Hz) se observan dos señales que integran para dos protones cada una. Por otro lado, a 3.93 ppm y 3.95 ppm se observan dos singuletes que integran para seis hidrógenos, correspondientes a dos metilos típicos de grupos metoxilo. A 2.25 ppm se observa una señal ancha que se intercambia con D_2O .

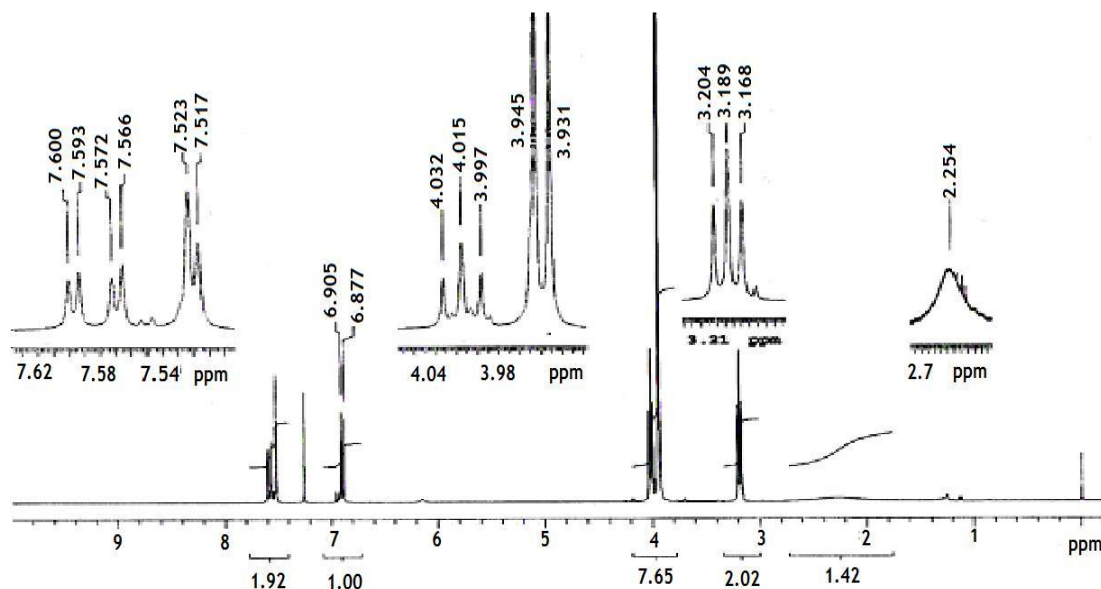


Figura 21. Espectro de RMN ^1H (300 MHz) del sólido B.

En el espectro de RMN ^{13}C (Figura 22), se observa a 199.08 ppm un carbono de cetona, y seis carbonos aromáticos a 153.71, 149.17, 129.99, 122.96, 110.11 y 110.01 ppm. Por otro lado, aparecen tres señales de C unidos a oxígeno (58.34, 56.1 y 56.01 ppm) y finalmente un carbono a 39.85 ppm. Con el apoyo de un experimento DEPT (Figura 23) se estableció de manera inequívoca que las señales a 122.96, 110.11 y 110.01 ppm corresponden a tres carbonos de tipo CH; a 58.34 y 39.85 ppm corresponden a carbonos de tipo CH_2 . Finalmente a 56.10 ppm y 56.01 ppm hay dos carbonos de tipo CH_3 . Por lo que el sólido B se identificó como 1-(3,4-dimetoxifenil)-3-hidroxiopropanona (Figura 24). Dicho compuesto fue aislado previamente de *Saussurea katochaete* (Mei-E *et al.*, 2007).

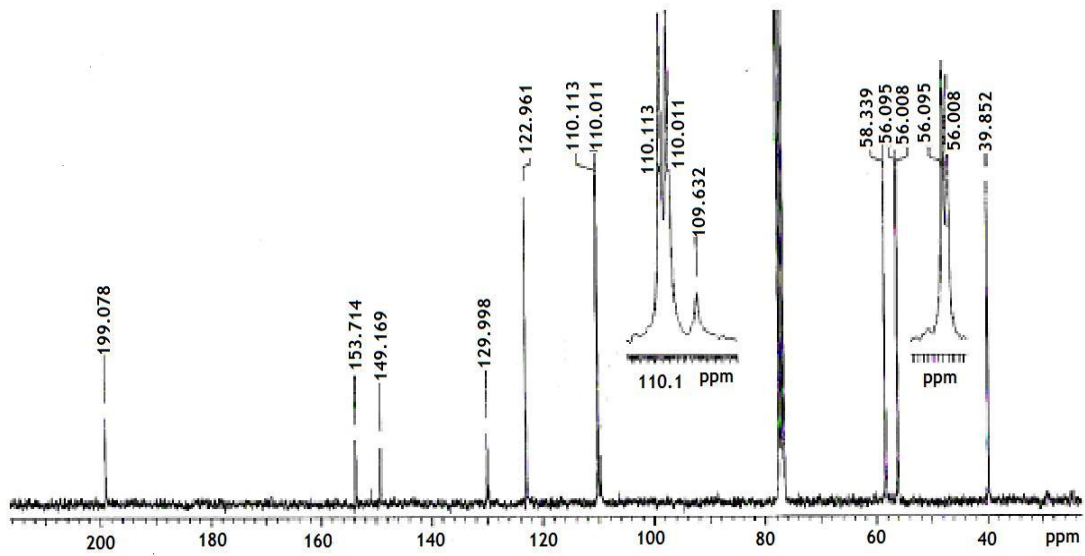
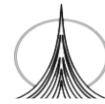


Figura 22. Espectro de RMN ^{13}C (75.4 MHz) del sólido B.

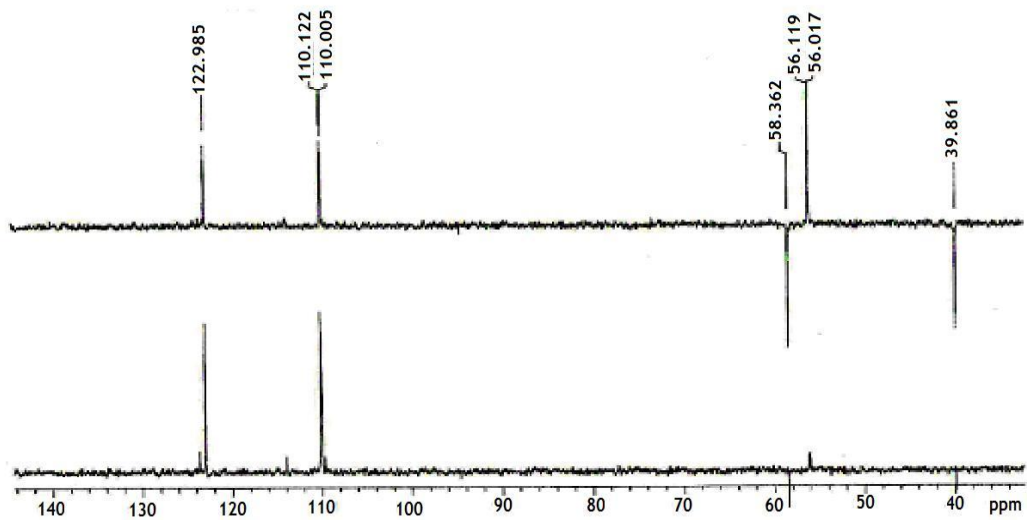


Figura 23. Experimento DEPT (75.43 MHz) del sólido B.

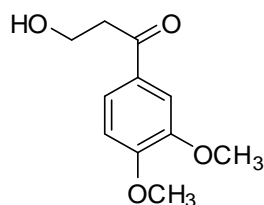


Figura 24. 1-(3,4-dimetoxifenil)-3-hidroxiopropanona (sólido B).

Por otro lado, la evaporación lenta de la reunión de las fracciones 44-45, permitió la precipitación de un sólido amorfo (C), el cual fue separado por filtración y lavado con éter isopropílico. Dicho sólido (5 mg) presentó un Rf de 0.21 (Hexano/AcOEt, 2:1), con punto de fusión de 87-90°C. El análisis espectroscópico y espectrométrico del sólido C coincidió con lo encontrado para el sólido B.

El filtrado residual de las fracciones 44 y 45 se reunió con las fracciones 46-50, debido a que presentaban un perfil cromatográfico similar. Dicha reunión se sometió a cromatografía en columna. A partir de las fracciones 4-10 de la re-cromatografía, por recristalizaciones sucesivas por par de disolventes AcOEt/ n-Hexano, se aisló un sólido blanco (D, 113.5 mg) de Rf= 0.4 (AcOEt 100%) y punto de fusión de 115-118°C.

El espectro de IR del sólido D (Figura 25) muestra una banda a un número de onda de 3428.29cm⁻¹, que corresponde a la vibración O-H. Por otro lado, se observa dos señales a 3009.44 cm⁻¹ y 2935.78 cm⁻¹ que corresponden a la vibración (C-H) de tipo aromático. A 1707 cm⁻¹ se observa una señal correspondiente a la vibración (C=O) de un grupo carbonilo.

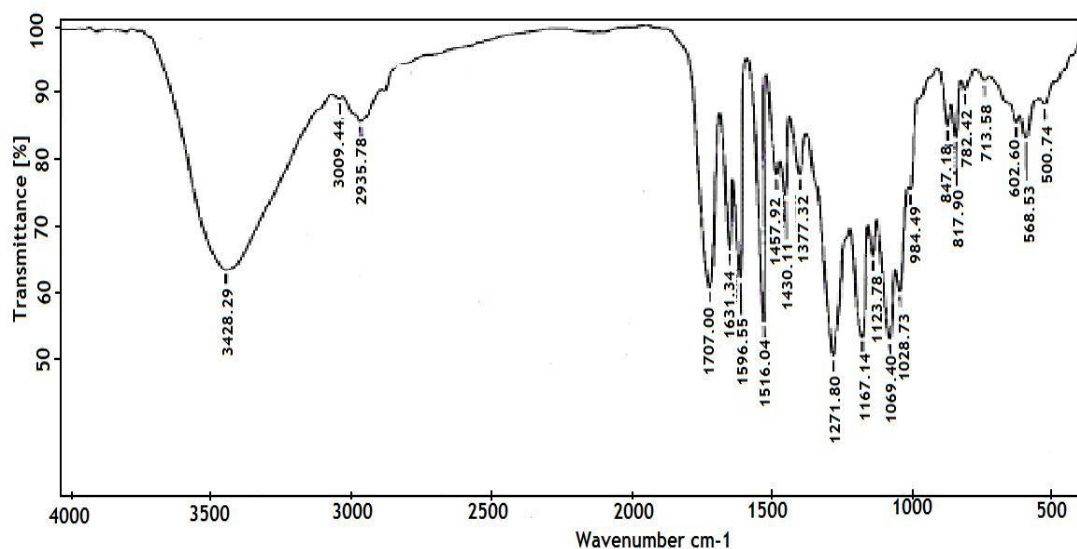


Figura 25. Espectro de IR del sólido D.

El espectro de masas del sólido D (Figura 26) muestra un ión con relación m/z de 530 $[M-2]^+$ que corresponde a un compuesto de la fórmula $C_{26}H_{28}O_{12}$.

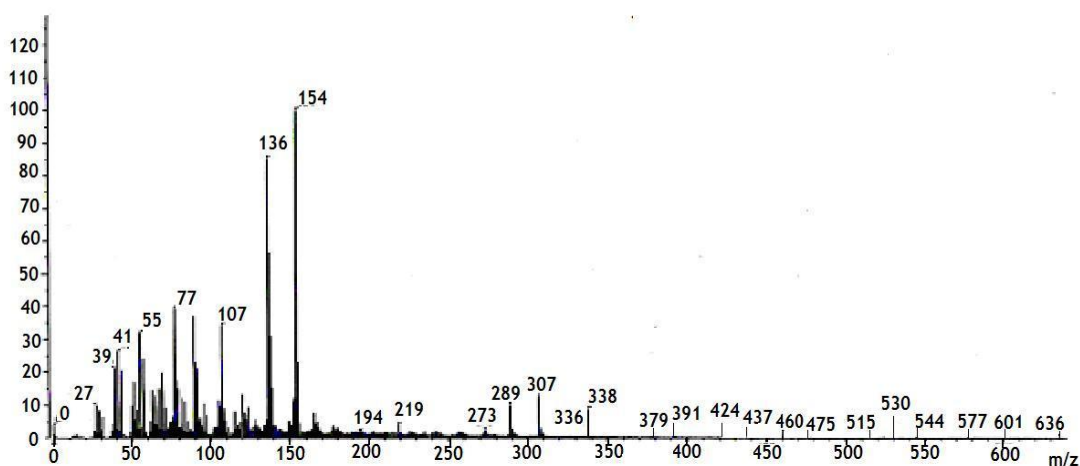


Figura 26. Espectro de masas (IE) del sólido D.

En el espectro de RMN ¹H (Figura 27) se observan cinco señales a 9.64 (s), 9.57 (s), 5.35 (d, $J= 2$ Hz), 5.29 (d, $J= 2$ Hz) y 5.22 ppm (d, $J=2$ Hz) que integran para cinco protones. La adquisición de un espectro adicional en presencia de



D₂O; así como la reacción del sólido bajo condiciones comunes de acetilación, permitió determinar que estas cinco señales correspondían a los protones de alcoholes. El desplazamiento a campo bajo de dos de las señales indicaron que los protones correspondientes estaban enlazados por puente de hidrógeno a algunas otras funcionalidades. La identificación de los alcoholes; así como de una señal a 5.51 ppm (d, $J = 8.5$ Hz) y algunas otras entre 3-5 ppm permitieron inferir la presencia de una molécula de azúcar, posiblemente glucosa, la cual se encontraba disustituida. Entre 6.5-7.7 ppm se observaron dos conjuntos de señales que en algunos casos se superponían totalmente. De ahí se distinguieron seis protones que estaban unidos a dos anillos aromáticos (3H X 2) y cuatro protones vinílicos (2H X 2) correspondientes a dos dobles enlaces, que por su desplazamiento químico indudablemente estaban conjugados con algún C=O por un extremo y a un anillo aromático por el otro. La presencia de dos metoxilos a 3.80 ppm, entre otras, permitió asignar como dos unidades de feruloilo que se encontraban unidos a la molécula de glucosa. El análisis del espectro de RMN ¹³C (Figura 28) y de la adquisición de un experimento DEPT (Figura 29) estuvieron en concordancia con la propuesta anterior.

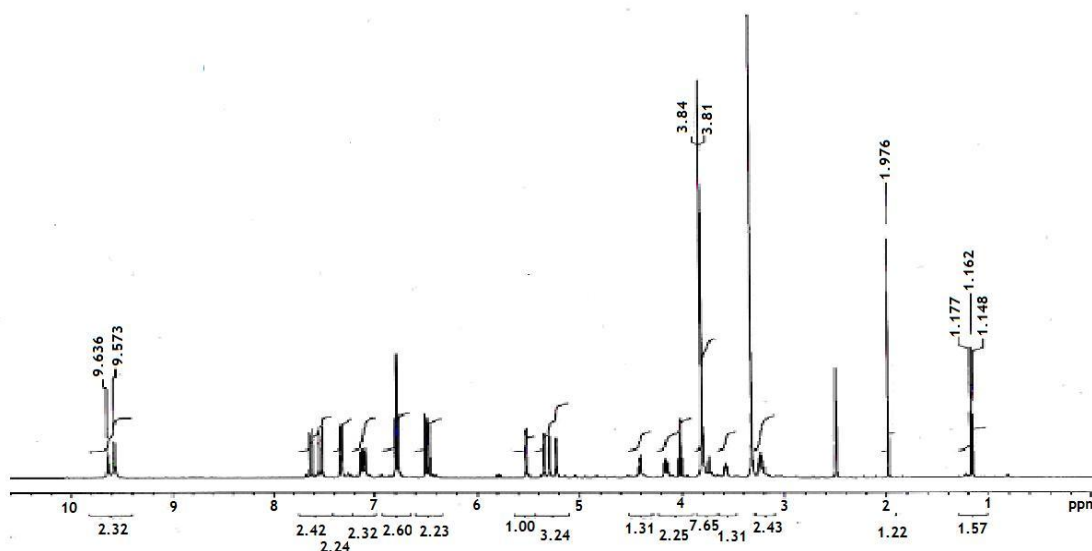


Figura 27. Espectro de RMN ¹H (500 MHz) del sólido D.

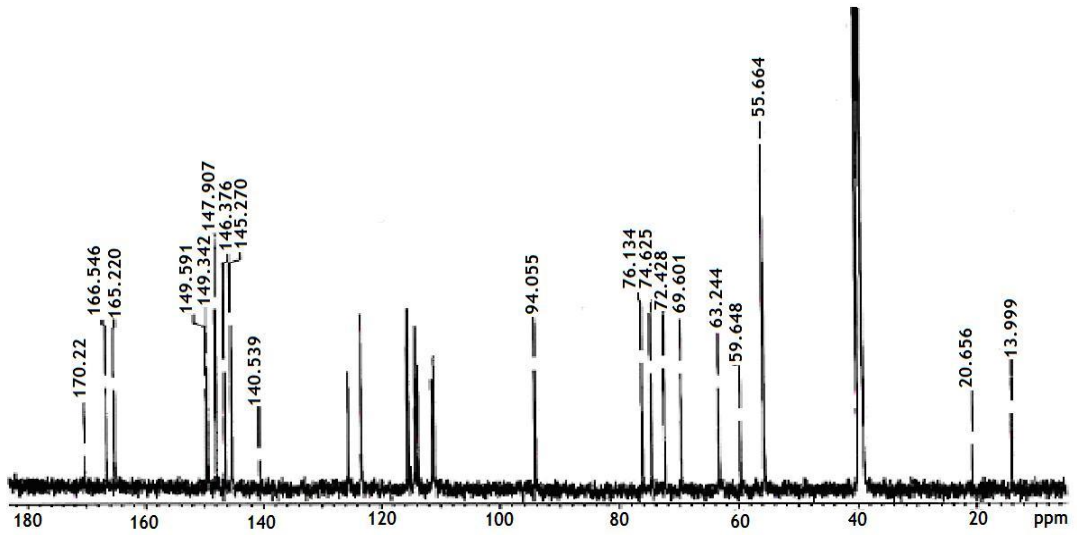
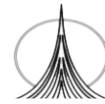


Figura 28. Espectro de RMN ^{13}C (125.7 MHz) del sólido D.

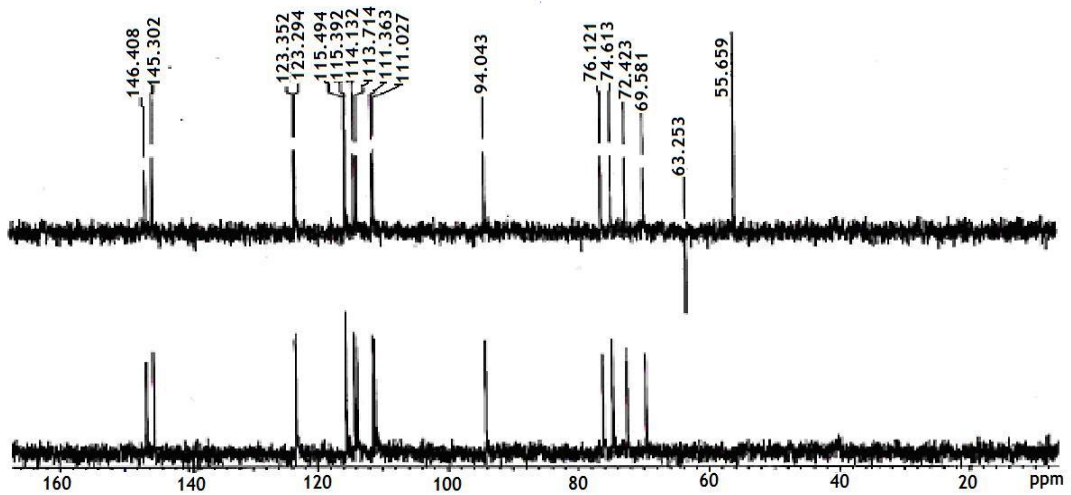


Figura 29. Experimento DEPT del sólido D.

El análisis de experimentos bidimensionales homonucleares y heteronucleares (COSY, NOESY, HMBC) permitió la correcta identificación del sólido **D** como 1,6-diferuloil-glucosa (Figura 30), la cual fue aislada previamente en *Sterculia foetida* (Peng-Fei et al., 2009).

En el cuadro 6, se comparan los datos experimentales de la 1,6-diferuloil-glucosa con los informados en la literatura (Peng-Fei et al., 2009).

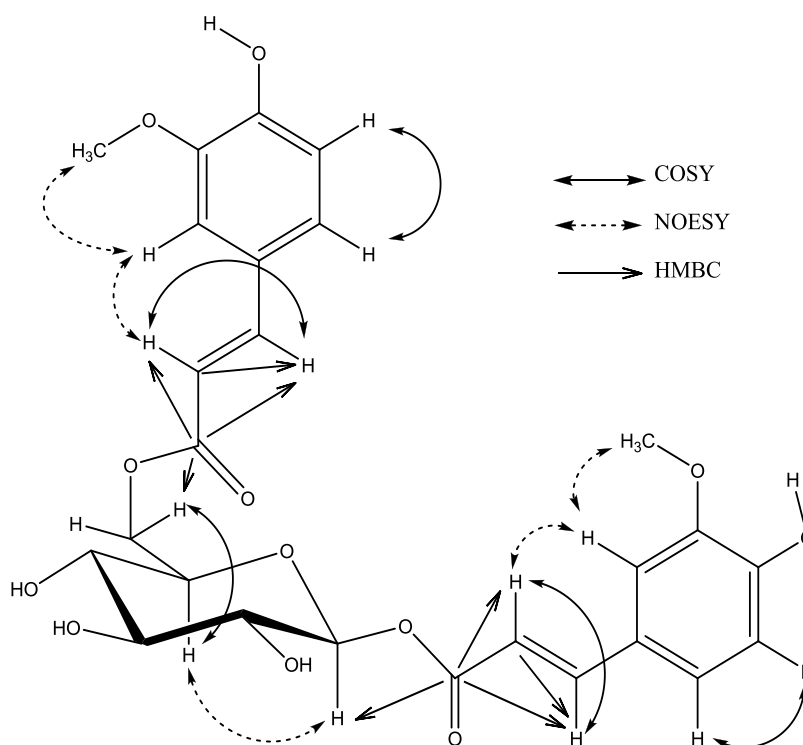


Figura 30. Interacciones diagnósticas observadas en los experimentos COSY, NOESY y HMBC para el sólido **D** (1,6-diferuloil-glucosa).



Cuadro 6. Asignación de las señales del espectro de RMN¹H para el sólido D.

Asignación	RMN ¹ H δ (ppm)*	RMN ¹ H δ (ppm)**
Ar-H	7.33 (d, 1H, J = 2 Hz)	7.32 (d, 1H, J = 2.0 Hz)
	7.32 (d, 1H, J = 1.5 Hz)	7.31 (d, 1H, J = 2.0 Hz)
	7.13 (dd, 1H, J = 2.0, 8.0 Hz)	7.12 (dd, 1H, J = 2.0, 8.0 Hz)
	7.10 (dd, 1H, J = 2.0, 8.5 Hz)	7.09 (dd, 1H, J = 2.0, 8.0 Hz)
	6.79 (d, 1H, J = 8.5 Hz)	6.78 (d, 1H, J = 8 Hz)
	6.77 (d, 1H, J = 8 Hz)	6.76 (d, 1H, J = 8 Hz)
Ar-OH	9.64 (s, 1H) y 9.57 (s, 1H) (Alcoholes quelatados)	-
Ar-OCH ₃	3.86 (s, 6H)	3.79 (s, 6H)
H vinílicos correspondientes a 2 dobles enlaces	7.63 (d, 1H, J = 16 Hz)	7.62 (d, 1H, J = 15.5 Hz)
	6.48 (d, 1H, J = 16 Hz)	6.47 (d, 1H, J = 15.5 Hz)
	7.53 (d, 1H, J = 16 Hz)	7.52 (d, 1H, J = 15.5 Hz)
	6.49 (d, 1H, J = 16 Hz)	6.48 (d, 1H, J = 15.5 Hz)
OH de azúcar	5.34 (d, 1H, J = 5.5 Hz)	-
	5.29 (d, 1H, J = 6 Hz)	-
	5.22 (d, 1H, J = 6 Hz)	-
CH del azúcar	3.60 (m, 1H)	3.56 (t, 1H)
	3.30 (1H)	3.30 (m, 1H)
	3.23 (m, 2H)	3.23 (m, 1H), 3.25 (m, 1H)
-CH ₂	4.39 (d, 1H, J = 10.5Hz)	4.40 (d, 1H, J = 12 Hz)
	4.16 (dd, 1H, J = 6,12.5 Hz)	4.14 (d, 1H, J = 6.0 Hz)

*Determinación experimental: adquisición en DMSO-d₆ (500MHz).

**Datos informados en la literatura (Peng-Fei, *et al.*, 2009), adquisición en DMSO-d₆ (500 MHz).

Más adelante, el análisis preliminar de la fracción 68 mediante el análisis de RMN¹H e IR, demostró la presencia de una mezcla de glicósidos. Tomando en cuenta lo anterior, una alícuota de dicha fracción se sometió a procesos de acetilación. La separación cromatográfica (CCF y CC) del producto de acetilación permitió el aislamiento de un sólido blanco (E, 7 mg) con un R_f de 3.1 (AcOEt-Hexano 2:1) que funde a 161-165 °C.

En el espectro de RMN¹H (Figura 31) se aprecian señales similares al núcleo de la acetovainillona (previamente descritas para el sólido A) así como las correspondientes a los acetatos de dos unidades de azúcar.

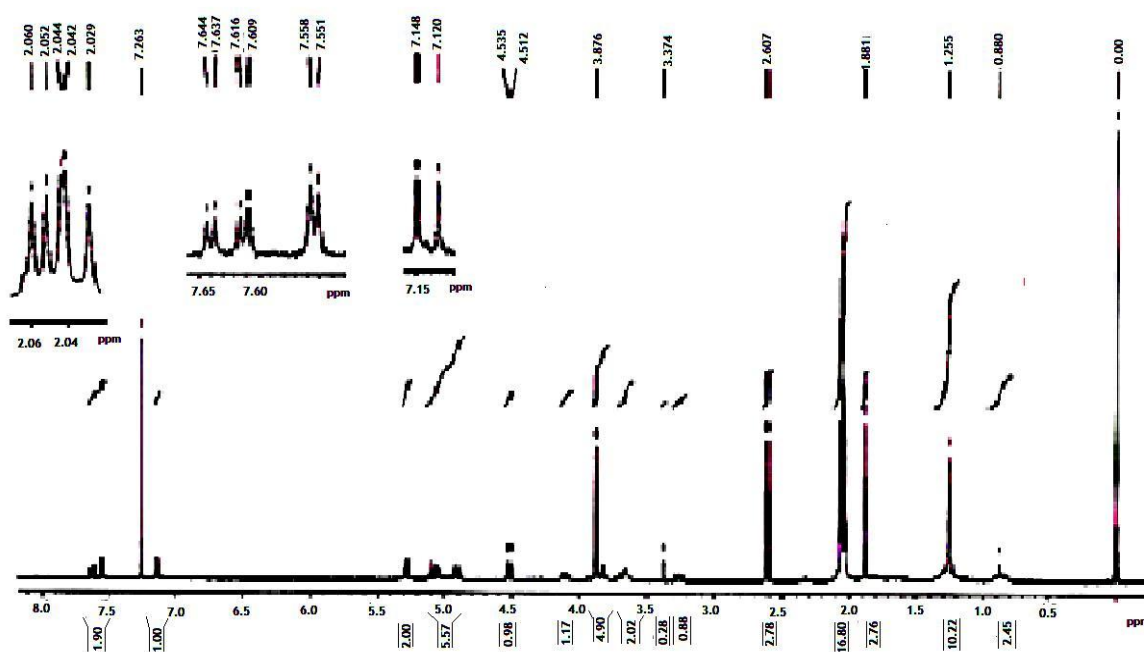


Figura 31. Espectro de RMN¹H (300MHz) del sólido E.

Dicho hallazgo, concordó con lo informado por Domínguez (1970) para un compuesto aislado de *Neolloydia texensis*; así, se identificó al sólido como hexaacetato de neolloydosina (Figura 32). En el cuadro 7 se muestran la estructura y las señales de RMN¹H del hexaacetato de neolloydosina.

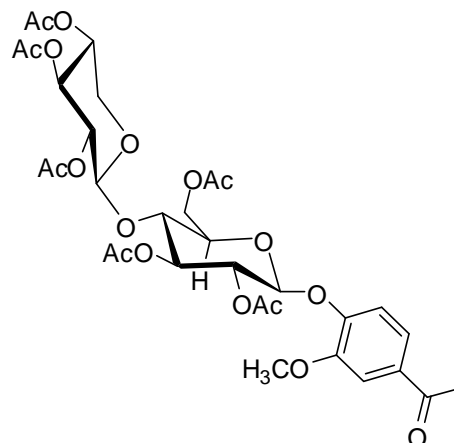


Figura 32. Hexaacetato de neolloydosina (Sólido E).

Cuadro 7. Señales experimentales de RMN¹H del hexaacetato de neolloydosina.

Asignación	RMN ¹ H δ (ppm)
Ar-H	7.63 (dd, 1H, $J = 2.1, 8.4$ Hz)
	7.55 (d, 1H, $J = 2.1$ Hz)
	7.13 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz)
	5.3 (m, 2H)
	4.9-5.1 (m, 5)
	4.5 (d, $J=6.9$, 1H)
	4.1 (m, 1H)
CH ₃ O-Ar	3.88 (s, 3H)
	3.85 (2H)*
	3.65 (ma, 2H)
	3.25 (m, 1H)
CH ₃ OC-Ar	2.6 (s, 3H)
CH ₃ CO-azúcar	2.06-2 (s, 15H)
	1.88(s, 3H)

Determinación experimental: adquisición en CDCl₃ (300MHz); *señal sobrelapada con el metoxilo.



8.2 RENDIMIENTO

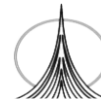
En el cuadro 8 se muestra el rendimiento obtenido de los metabolitos secundarios aislados con respecto al peso del extracto orgánico obtenido.

Cuadro 8. Rendimiento de los metabolitos secundarios aislados del extracto de *N. conoidea* con respecto al peso del extracto orgánico.

Compuesto	Cantidad obtenida (g)	Rendimiento (%)
Acetovainillona	0.038	0.175
1-(3,4 dimetoxifenil)- 3-hidroxiopropanona.	0.005	0.023
1,6-diferuloil glucosa	0.114	0.519
Hexaacetato de neolloydosina	0.007 (acetato) 0.004 (equivalencia al compuesto desacetilado)	0.018

8.3 ACTIVIDAD CITOTÓXICA DEL EXTRACTO ORGÁNICO Y DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE *N. conoidea*

El extracto orgánico en CH₂Cl₂-MeOH de *N. conoidea* no presentó efectos citotóxicos significativos en las cinco líneas celulares de cáncer humano. Aunque el efecto citotóxico observado por los metabolitos secundarios aislados es marginal, la acetovainillona presentó actividad y selectividad en la línea celular MCF-7. De igual manera, 1,6-diferuloil-glucosa lo fue para las líneas celulares U-251, K-562 y MCF-7 (Cuadro 9).



Cuadro 9. Efectos de citotoxicidad de los metabolitos secundarios aislados de *N. conoidea*

Compuesto	U-251	PC-3	K-562	HCT-15	MCF-7
A	21.13	S.A.	S.A.	10.24	54.02
B	11.48	S.A.	S.A.	7.34	33.21
D	48.43	13.26	44.9	10.26	72.9
E	N.D	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Resultados expresados como % de inhibición del crecimiento celular.
Concentración de evaluación: 50 μ M.
N.D: No determinado.
S.A: Sin actividad.

8.4 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ORGÁNICO Y DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE *N. conoidea* EN EL MODELO DE EDEMA INDUCIDO EN OREJA DE RATÓN POR TPA

El extracto orgánico de *N. conoidea* presentó actividad antiinflamatoria significativa. Así, a una dosis de 1mg inhibió en un 32.4 % el edema inducido por TPA.

Por otro lado, se evaluó la actividad antiinflamatoria de los compuestos aislados y se observó que la acetovainillona (A) y la 1,6-diferuloil-glucosa (D) presentaron una actividad moderada. Así, A presentó un DI_{50} de 3.5 μ mol/oreja; por su parte, D presentó un E_{max} del 48.89 ± 3.72 % a 3.16 μ mol/oreja. Las curvas comparativas de A, D e Indometacina se muestran en la figura 33.

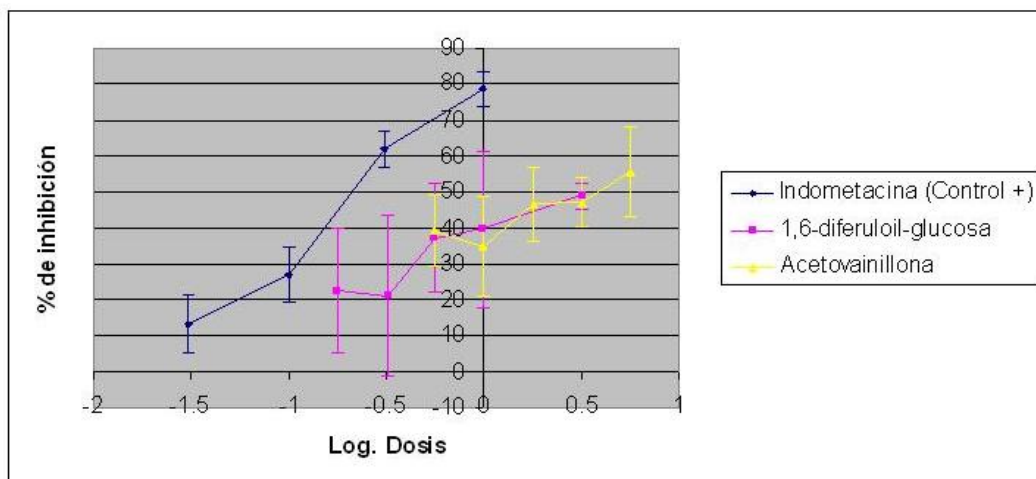
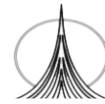


Figura 33. Curva comparativa del efecto antiinflamatorio de la Acetovainillona (A), 1,6 diferuloil-glucosa (E) e Indometacina.

Adicionalmente, se observó que el acetato de diferuloil-glucosa, preparado químicamente presentó actividad antiinflamatoria 42.7% de inhibición de edema a $0.31 \mu\text{mol/oreja}$. Considerando que E fue un derivado semisintético, se evaluó la fracción original empleada de sustrato y se observó que dicha fracción no presentó actividad antiinflamatoria significativa. Dicho hallazgo puede deberse a la diferencia en liposolubilidad o a un efecto de dilución de la actividad.

8.5 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ATRAPADORA DE RADICALES LIBRES DEL EXTRACTO ORGÁNICO Y DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE *N. conoidea*.

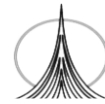
Posteriormente, se evaluó la acción atrapadora de radicales libres *in vitro* y los efectos antioxidantes del extracto orgánico, así como de los metabolitos aislados. Como se puede observar en el cuadro 10, el extracto orgánico presentó actividad antioxidante y atrapadora de radicales libres con concentraciones inhibitorias medias de $57.78 \pm 3.35 \text{ ppm}$ y $33.34 \pm 0.69 \text{ ppm}$ respectivamente. De los metabolitos secundarios aislados, sólo D presentó efectos análogos a los del extracto.



Cuadro 10. Acción atrapadora de radicales libres y actividad antioxidante del extracto orgánico y de la 1,6-diferuloil-glucosa.

Muestra	Acción atrapadora de radicales libres CI50	Actividad antioxidante CI50
Extracto orgánico	33.34 ± 0.69 ppm	57.78 ± 3.35 ppm
1,6-diferuloil-glucosa	57.60 ± 1.80 µM	37.24 ± 2.18 µM
Quercetina (control +)	3.68 ± 0.16 ppm (10.89 ± 0.47 µM)	0.51 ± 0.01 ppm (1.50 ± 0.03 µM)
Ac. cafeico (control +)	3.91 ± 0.19 ppm (21.7 ± 1.07 µM)	ND

ND: No determinado



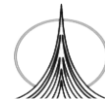
9. CONCLUSIONES

El estudio químico de *N. conoidea*, permitió el aislamiento de cuatro compuestos, uno de ellos derivatizado. Así, se identificaron acetovainillona, 1-(3,4-dimetoxifenil)-3-hidroxiopropanona, 1,6-diferuloil-glucosa y neolloydosina (como su hexaacetato).

El extracto orgánico, con una baja actividad citotóxica a las diferentes líneas de cáncer, inhibió de manera significativa el edema inducido por TPA; además, dicho extracto presentó efectos antioxidantes que correlacionan con una acción atrapadora de radicales libres.

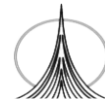
La acetovainillona presenta actividad antiinflamatoria dependiente de la dosis e inhibe de forma moderada el crecimiento celular de la línea celular MCF-7. Sin embargo, no posee efectos antioxidantes, ni atrapadores de radicales libres, de acuerdo con los modelos empleados en este trabajo.

La 1,6-diferuloil-glucosa inhibe de forma moderada las líneas celulares de cáncer humano MCF-7, K-562 y U-251; además, presenta efectos antiinflamatorios significativos, pero con un efecto máximo limitado ($\leq DE_{50}$). Este compuesto posee efectos antioxidantes que correlacionan con su capacidad para atrapar radicales libres.

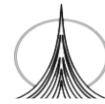


10. LITERATURA CITADA

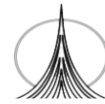
- Adcock I. (2000). Molecular mechanisms of glucocorticoids actions. *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics* **13**: 115-126
- Anaya L. (2003). Ecología Química. Editorial Plaza y Valdés. México. 48-57 pp.
- Anderson E., Barthlott W., Brown R. (2001). The Cactus Family. Editorial Timber Press. 776 pp.
- Arroyo J., Prashad M., Vásquez Y., Li E., Tomás G. (2005). Actividad citotóxica *in vitro* de la mezcla de *Annona muricata* y *Krameria lappacea* sobre células cancerosas de glándula mamaria, pulmón y sistema nervioso central. *Jornada médica peruana* **22**: 247-253
- Awad B., Chen C., Fink S., Hennessey T. (1996). B-sitosterol inhibits HT-29 human colon cancer cell growth and alters membrane lipids. *Anticancer-Research* **16**: 2797-2804.
- Borne R. (1995). Non-esteroidal anti-inflammatory drugs. In Foye, W. O., Lemke T., Williams D. Principles of Medical Chemistry. 4 ed. Lippincot Williams & Wilkins. Baltimore, EU. 535-580 pp.
- Bravo H. (1937). Las Cactáceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 755 pp.
- Bravo H. (1978). Las Cactáceas de México. Editado por la Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 743 pp.
- Bravo H., Scheinvar L. (1995). El Interesante Mundo de las Cactáceas. Fondo de Cultura Económica, México. 350 pp.
- Cartaya O., Reinaldo I. (2001). Flavonoides: Características Químicas y Aplicaciones. *Cultivos Tropicales* **22**: 5-14.
- Céspedes C., Salazar R., Martínez M., Aranda E. (2005). Insect growth regulatory effects of some extracts and sterols from *Myrtillocactus geometrizans* (Cactaceae) against *Spodoptera frugiperda* and *Tenebrio molitor*. *J. Phytochemistry* **66**: 2481-2493.



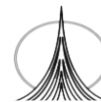
- Cottele N., Bernier J., Catteau P., Pommery P., Wallet J., Gaydou M. (1996). *Free Radical Biology & Medicine*. **20**: 35-43.
- Delgado G., Jiménez M., Saad I., Sánchez A., Reyes R., Céspedes C., Salazar R., Fontana B., Collera O., García F., Romo A., Pérez A., Arciniegas A. (2006). *Química de la Flora de Mexicana: Investigaciones en el Instituto de Química de la UNAM*. Publicado por UNAM. pp. 89-90, 141-145.
- Delgado E. (2007). *Significancia taxonómica de los perfiles fenólicos de algunas especies de la familia cactaceae*. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro interdisciplinario de investigación para el desarrollo integral regional. Unidad Durango, IPN.
- De Young L., Kheifets J., Ballaron S., Young J. (1989). Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. *Agents and Actions* 335-341 pp.
- Díaz S., Gurvich D., Harguindeguy N., Cabido M. (2002). ¿Quién necesita tipos funcionales de plantas? *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* **37**: 135-140.
- Dominguez X., Carrero R., González R., Rojas P., Ketcham R. (1967). Isolation of Ocotillo, Acetovanillone, Androsin and a new glycoside from the cactus *Neolloydia texensis*. *Chemistry and Industry* **51**: 2147-2148.
- Dominguez X., Gonzalez R., Carrero R. (1970). Chemical study of *Neolloydia Texensis* (Cactaceae) II. Isolation of androsin and a new glycoside neolloydosin and determination of its structure. *Revista de la Sociedad Química de México* **14**: 3-6.
- Dzubak P., Hajduch M., Vydra D., Hustova A., Kvasnica M., Biedermann D., Markova L., Urban M., Sarek J. (2006). Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications. *Natural Product Reports* **23**: 394-411.
- Espinos D., López A., Calvo E. (2004). Bases farmacológicas y tratamiento de la inflamación. En Monografía XV, Nuevos avances en medicamentos. Eds Avendaño C y Tamargo J. Real Academia Nacional de Farmacia. España. 237-286 pp.



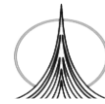
- Esterbauer H., Cheeseman H. (1990). *Methods of Enzymology* **186**: 407-421.
- Feldman M., McMahon A. (2000). Do Cyclooxygenase-2 inhibitors provide benefits similar to those of traditional Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs, with less Gastrointestinal Toxicity? *Annals International Medicine*, **132**:134-143.
- Flores-Rosete G., Martínez M. (2008). Anti-inflammatory and Citotoxic Cycloartanes from guayule (*Parthenium argentatum*). *Natural Products Communications* **3**: 413-422.
- Fu L., Zhang S., Li N., Wang J., Zhao M., Sakai J., Hasegawa T., Mitsui T., Kataoka T., Oka S., Kiuchi M., Hirose K., Ando M. (2005). Three new triterpenes from *Nerium oleander* and biological activity of the isolated compounds. *Journal of Natural Products* **68**: 198-206.
- Fuller D., Fitzgerald S. (1987). Conservation and commerce of cacti and others succulents. World Wildlife Found. Washington, D.C. 264 pp.
- Gálvez J., Zarzuelo A., Crespo M., Lorente M., Ocete M., Jiménez J. (1993). Anthidiarrhoeic activity of *Euphorbia hirta* extract and isolation of an active flavonoid constituent. *Planta medica* **59**. 333-336.
- Gálvez J., Duarte J., Sánchez de Médina F., Jiménez J., Zarzuelo A. (1996). Inhibitory effects of quercetin on guinea-pig ileum contractions. *Phytotherapy Research* **10**: 66-69.
- Gama, A. (2009). Determinación de las actividades antiinflamatorias y citotóxicas de *Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxbaum. Tesis de licenciatura. FES Zaragoza. UNAM.
- Gijón J., De Miguel M. (1997). Inflamación y dolor: conceptos básicos. Grupo aula medica. pp. 1,16,18.
- Gisbert J., Villanueva E. (2005). Medicina legal y toxicología. Editorial Elsevier, Sexta edición. España. pp 896.
- Gutiérrez B., y Salsamendi A. (2001). Fundamentos de ciencia toxicológica. Editorial Díaz de Santos. España. 760 pp.
- Guzmán U., Arias S., Dávila P. (2003). Catálogo de Cactáceas Mexicanas. Universidad Nacional Autónoma de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 350 pp.



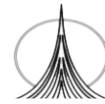
- Harborne J., Baxter H. (1995). *Phytochemical Dictionary. A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*. Taylor & Francis. U.K. 990 pp.
- Harridas V., Charles J., Jordan G. (2001). Avicins, a family of triterpenoid saponins from *Acacia victoriae* (Benthams), inhibit activation of nuclear factor- κ B by inhibiting both its nuclear localitation and ability to bind DNA. *Journal of Sciences Medical* **98**: 11557- 11562.
- Hart A., Simons M., Knaan S., Bakker P., Labadie P. (1990). Antiarthritic activity of the newly developed neutrophil oxidative burst antagonist *Apocynin*. *Free Radicals in Biology and Medicine* **9**:127-131.
- Hersch-Martinez P. (1995). Commercialization of wild medicinal plants from southwest Puebla, Mexico. *Economic Botany* **49**(2):197-206.
- Hernández M., Godinez H. (1994). Contribución al conocimiento de las Cactáceas mexicanas amenazadas. *Acta Botánica Mexicana* **26**:33-52.
- Hunt D. (1992). Cites cactaceae checklist. Royal Botanic Gardens, Kew. Surrey. 190 pp.
- IUPAC. Compendio de terminología química. 1977.
- Jarvis E. (1979). Trade in cacti and other succulent plants in the United Kingdom. *Cacti Succulent Journal*. Great Britain **41**: 113-118.
- Katzung, G. (1999). Farmacología básica y clínica. Ed. Manual moderno, Séptima edición. pp 1011-1013.
- Kliebenstein J. (2004). Secondary metabolites and plant / Environment Interactions: A view through *Arabidopsis thaliana* tinged glasses. *Journal of Plant Cell and Environment* **27**: 675-684.
- Konoshima T., Takasaki M., Tokuda H., Nishino H., Duc M., Kasair R., Yamasaki K. (1998). Antitumor promoting activity of majonoside-R2 from Vietnamese ginseng *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. *Biological & pharmaceutical bulletin* **21**: 834-838.
- Lowry H., Rosebrough N., Farr L., Randall J. (1951). *Journal of Biology Chemistry* **193**: 265-275.
- Mandujano C., Goluvov J., Reyes J. (2002). Lo que usted siempre quiso saber sobre las Cactáceas y nunca se atrevió a preguntar. *Biodiversitas* **40**: 12-17.



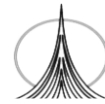
- Margini R (1996). Inmunología y Inmunoquímica. 5ª edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina. pp 976.
- Mark B., Stiger L., Tymoczko J., Macarulla J. (2008). Bioquímica. 2ª edición. Editorial Reverte. España. 644-646 pp.
- Mata R., Mclaughlin J. (1980). Tetrahydroisoquinidine alkaloids of the mexican columnar cactus *Pachycereus weberi*. *Phytochemistry* **19**: 673-678.
- Mata R. (1998). Curso teórico de farmacognosia. Facultad de Química. UNAM. pp. 101.
- Mata R. (2000) Curso teórico de farmacognosia. Segunda Versión. Departamento de Farmacia. Facultad de Química. UNAM. México. pp 67-116.
- Mei-E Yue., Ya Li., Yan-Ping Shi. (2007). Determination of Six Bioactive Components of *Saussurea katochaete* by Capillary Electrophoresis. *Biomedical Chromatography* **21**: 373-381.
- Méric B., Rottey S., Olausson K., Soria J., Khayat D., Rixe O., Spano P. (2006). Cyclooxygenase-2 as a target for anticancer drug development. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, **59**:51-64.
- Middleton E., Kandaswami C, Theoharides T. (2000). The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacol Rev* **52**: 673-75.
- Middleton E., Kandaswami C. (1994). The flavonoids: Advances in research since 1986, ed. Herbone, J.B., Capman & may. London. pp 619-552.
- Monks A., Scudeiro D., Skehan P., Schoemaker R., Paul K., Vistica D., Hose C., Langley J., Cronise A., Vaigro A., Gray M., Campbell H., Mayo J., 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* **83**: 757-766.
- Nelson D., Cox M. (2005). Principios de Bioquímica. 4ª edición. Editorial Omega. 1119 pp.
- Newton R. (2000). Molecular mechanisms of glucocorticoid action: what is important? *Thorax* **55**: 603-613.



- Ocegueda S., Moreno E., Koleff P. (2005). Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. *Bidiversitas* **62**: 12-15.
- Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. (1979). Assay for lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbiuric Acid Reaction. *Analitycal Biochemistry* **95**: 351-358 pp.
- Oviedo I. (2007). Obtención de agentes antiinflamatorios y citotóxicos a partir de modificaciones químicas a los ácidos masticadienoico y 3-epimasticadienolico. Tesis de Doctorado. Posgrado en Ciencias Químicas UNAM.
- Palmen J., Beukelman J., Mooij G., Pena S., Van Rees P. (1995). Anti-inflammatory effect of Apocynin, a plant-derived NADPH oxidase antagonist, in acute experimental colitis. *The Netherlands Journal of Medicine* **40**: 41-41.
- Pardo F. (1998). Compendio de anatomía patológica. Editorial Elsevier, España. pp 200-211.
- Peng-Fei X., Zi-Ming F., Ya Nan Yang., Pei-Cheng Zhang. (2009). Two Flavonoid Glycosides and Phenylpropanoid Ester from the leaves of *Sterculia foetida*. *Journal of Asian Natural Products Research*. **11**: 766-771.
- Ran X., Fazio G., Matsuda S. (2004). On the origins of triterpenoid skeletal diversity. *Phytochemistry* **65**: 261-291.
- Rzedowski J. (1978). Vegetación en México. Editorial Limusa. México. 432 pp.
- Rojas M. (1988). Inmunológica. 7ª ed., Corporación para la investigación biológica CIB, Colombia, pp 56-78.
- Rossato I., Ketzner A., Centuriao B., Silva N., Lüdtke S., Zeni G., Braga L. Rubin A., Rocha T. (2002). Antioxidant Properties of New Chalcogenides Against Lipid Peroxidation in Rat Brain. *Neurochemical Research*. **27**: 297-303.



- Sánchez 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. FES Zaragoza, UNAM.
- Tan L., Sulaiman F., Najimuddin N., Samina M., Tegku Muhammad T. (2005). Methanolic extract of *Pereskia bleo* (Kunth) DC. (Cactaceae) induces apoptosis in breast carcinoma, T47-D cell line. *Journal of Ethnopharmacology* **96**: 287-294.
- Teijón J., Teijón M., Garrido A. (2006). Fundamentos de Bioquímica Estructural. Editorial Tebar. México. 385 pp.
- Van den Worm E., Beukelman J., Van der Berg J., Kroes H., Labadie P., Van Dijk H. (2001). Effects of methoxylation of apocynin and analogs on the inhibition of reactive oxygen species production by stimulated human neutrophils. *European Journal of Pharmacology* **2**: 225-230.
- Van den Broucke C., Lemli J. (1982). Antispasmodic activity of *Origanum compactum*. Part 21: Antagonistic effect of thymol and carvacrol. *Planta medica* **45**: 188-190.
- Viesca C. (1976). La Herbolaria en el México Prehispánico. En Lozoya X. (ed) Estado actual del conocimiento en plantas medicinales mexicanas. IMEPLAM. México. pp. 11-26.
- Williams A., Grayer J. (2004). Anthocyanins and other flavonoids. *Natural Products Report*. **21**: 539-573.
- Ze T., Yu- Ming L., Si-Bao C., Jun-Shan Y., Pei-Gen X., Liao W., Erxi W. (2008). Cytotoxicity of two triterpenoids from *Nigella glandulifera* *Journal of Molecules* **11**: 693-699.



11. REFERENCIAS ELECTRÓNICAS

- American Cancer Society. (2010). Cancer Facts & Figures. (<http://www.cancer.org>). Fecha de consulta: 13 abril del 2010.
- CONABIO. (2010). <http://conabioweb.conabio.gob.mx> (Fecha de consulta: 14 de Enero del 2010).
- IMSS. (2010). Comunicado de la coordinación de comunicación social. No. 022. *Fundamental el papel del IMSS en la lucha contra el cáncer*. Formato PDF. Consultado en www.imss.gob.mx. Fecha de consulta: 18 de Julio del 2010.
- KoningsG. (2003). Chihuahuan desert plants. <http://museum.utep.edu/chih/gardens/plants/NtoQ/neolloydiacono.htm>. Última actualización: 24 de Septiembre del 2003. Fecha de consulta: 14 de Noviembre del 2009.