



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

---

---

Evaluación biológica  
del extracto metanólico del muérdago  
*Cladocolea Ioniceroides*

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**P R E S E N T A :**

**Guadalupe Antonio Alvarado**



México, D. F.

2014



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **JURADO ASIGNADO**

<b>PRESIDENTE:</b>	Dra. María Isabel Aguilar Laurents
<b>VOCAL:</b>	M. en C. José Manuel Méndez Stivalet
<b>SECRETARIO:</b>	Dr. José Fausto Rivero Cruz
<b>1er. Suplente:</b>	Dra. Mabel Clara Fragoso Serrano
<b>2do. Suplente:</b>	M. en C. Abraham Madariaga Mazón

### **Sitio donde se desarrolló el proyecto:**

Conjunto de Investigación E,  
Edificio de Farmacia, Laboratorio 111,  
Facultad de Química UNAM

### **Asesor**

---

Dr. José Fausto Rivero Cruz

### **Sustentante**

---

Guadalupe Antonio Alvarado

## ÍNDICE

Relación de Gráficas	V
Relación de Figuras	VI
Relación de Tablas	VII
Relación de Diagramas	VII
Relación de abreviaturas utilizadas	VIII
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>II. ANTECEDENTES</b>	
ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES	4
<b>Insuficiencia cardiaca</b>	<b>5</b>
MECANISMOS DE VASORRELAJACIÓN	6
<b>Actividad vasorrelajante de los flavonoides</b>	<b>7</b>
<b>Endotelio</b>	<b>8</b>
Relajación dependiente	8
Relajación independiente	9

ANTIOXIDANTES	10
<b>Actividad antioxidante</b>	11
Clasificación	12
PLANTAS MEDICINALES UTILIZADAS PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES	13
<b>III. OBJETO DE ESTUDIO</b>	
MUÉRDAGO	16
<b>Aspectos sociohistóricos</b>	17
<b>Características físicas y ciclo biológico</b>	19
<b>Clasificación</b>	20
<b>Distribución geográfica</b>	21
El muérdago en la ciudad de México	22
<b>Composición química</b>	24
<b>Toxicidad</b>	26
<b>Usos</b>	
Propiedades medicinales y farmacológicas	26
Fitoterapia	27
<b>Especie <i>Cladocolea Ioniceroides</i> (CL)</b>	
Descripción macroscópica	28
Hospedantes	30
Usos	
<i>Farmacología</i>	30

<i>Etnobotánica</i>	30
<i>Consumo popular</i>	31
<b>IV. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</b>	
JUSTIFICACIÓN	33
OBJETIVOS	34
<b>V. DESARROLLO EXPERIMENTAL</b>	
FUNDAMENTO TEÓRICO	35
<b>Ensayos para compuestos antioxidantes</b>	
Capacidad antioxidante de ABTS <sup>•+</sup>	35
Capacidad de atrapamiento del radical DPPH <sup>•</sup>	36
<b>Procedimientos generales</b>	37
Fraccionamiento primario	38
Fraccionamiento secundario	39
<b>Ensayo biológico</b>	43
Evaluación de la actividad vasorrelajante	43
<i>Ensayo de aorta aislada de rata</i>	43
<b>Determinación de la actividad antioxidante de los extractos metanólicos del muérdago <i>Cladocolea Ioniceroides</i></b>	44
Actividad de atrapamiento del DPPH <sup>•</sup>	44

Determinación de la actividad de atrapamiento del radical ABTS <sup>•+</sup>	45
<b>VI. RESULTADOS y DISCUSIÓN</b>	
<b>Aislamiento de la (-)-epicatequina a partir de las hojas del muérdago</b>	47
<b>Actividad vasorrelajante del extracto metanólico del muérdago <i>Cladocolea loniceroides</i></b>	50
<b>Actividad antioxidante del extracto metanólico del muérdago <i>Cladocolea loniceroides</i></b>	51
Método de neutralización del radical libre DPPH <sup>•</sup>	51
Ensayo de decoloración del radical catiónico ABTS <sup>•+</sup>	52
<b>VII. CONCLUSIONES</b>	53
<b>VIII. PERSPECTIVAS</b>	54
<b>IX. REFERENCIAS CONSULTADAS</b>	55

## RELACIÓN DE GRÁFICAS

1. Decesos por enfermedades no contagiosas en México	3
2. Curva patron de Trolox <sup>®</sup>	45
3. Curva patrón de Trolox <sup>®</sup> para ensayo de inhibición de radical ABTS <sup>•+</sup>	46
4. Efecto vasorrelajante del extracto de muérdago <i>Cladocolea Ioniceroides</i>	51

## RELACIÓN DE FIGURAS

1. Mecanismos de relajación y contracción del músculo liso vascular, con el uso de los flavonoides	7
2. Árbol con muérdago	17
3. Mapa que muestra los sitios infestados por muérdago en la zona urbana del Distrito Federal, señalados en puntos color verde	23
4. Familia de los flavonoides	24
5. Estructura de la (-)-epicatequina	25
6. Muérdago <i>Cladocolea Ioniceroides</i> . A, ejemplar; B, tallo con hojas e inflorescencias; c, corte histológico transversal, y D, corte histológico longitudinal	29
7. Formación del radical ABTS <sup>•+</sup>	36
8. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con antioxidante	37

9. Macerado metánolico del muérdago del <i>C. Ioniceroides</i>	<b>38</b>
10. Cromatoplaça de la fracción II'' y la referencia de la (-)-epicatequina.	<b>40</b>
11. Espectro RMN de la (-)-epicatequina	<b>48</b>

## RELACIÓN DE TABLAS

1. Plantas medicinales utilizadas para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares	14
2. Preparaciones de muérdago para consumo humano	32
3. Fraccionamiento primario del extracto metanólico del muérdago <i>C. Ioniceroides</i> por cromatografía en columna	38
4. Fraccionamiento secundario del extracto metanólico del muérdago <i>C. Ioniceroides</i> por cromatografía en columna	39
5. Desplazamientos químicos de RMN <sup>1</sup> H de la (-)-epicatequina	49
6. E <sub>max</sub> (%) y CE <sub>50</sub> (µg/ml) del extracto metanólico de muérdago <i>C. Ioniceroides</i>	50
7. Resultados del ensayo de neutralización del radical DPPH <sup>•</sup>	52
8. Resultados del ensayo de decoloración del radical catiónico ABTS <sup>•+</sup>	52

## RELACIÓN DE DIAGRAMAS

1. Resumen del fraccionamiento del extracto metanólico del muérdago <i>C. Ioniceroides</i> obtenido del árbol de trueno	41
2. Procedimiento de la obtención de la (-)-epicatequina	41
3. Procedimiento de la obtención del extracto metanólico del muérdago <i>C. Ioniceroides</i> , obtenido del árbol de álamo blanco	42

## RELACIÓN DE ABREVIATURAS UTILIZADAS

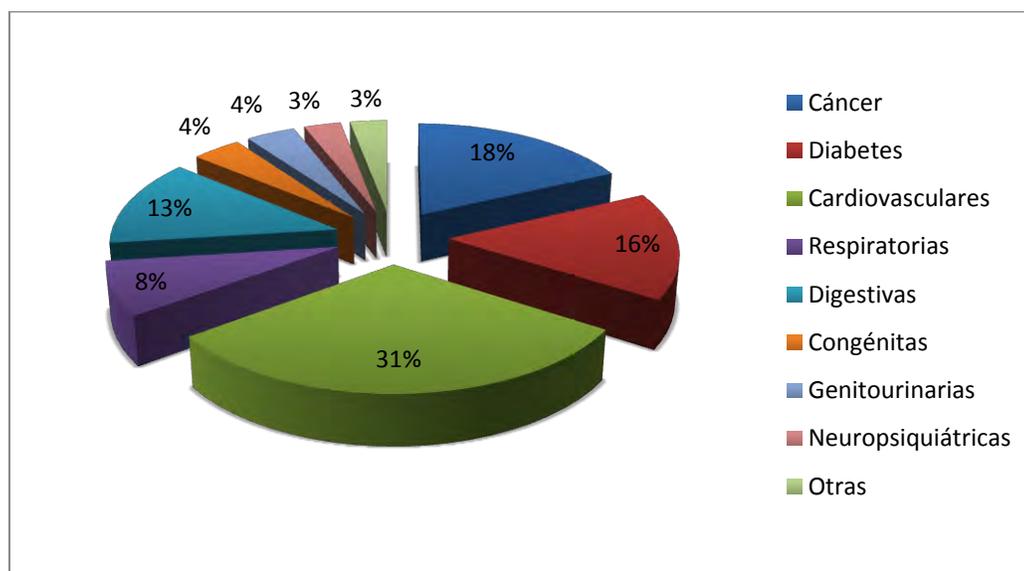
ABREVIATURA	SIGNIFICADO
AA	Ácido araquidónico
AC	Adenilciclase
AHA	Asociación Norteamericana del Corazón
AlCl <sub>3</sub>	Tricloruro de aluminio
AMP <sup>c</sup>	3',5' monofosfato de adenosina cíclico
AMP	5'-monofosfato de adenosina
AVC	Accidentes Vasculares Cerebrales
BK	Canales de potasio
CCA	Cromatografía en columna de vidrio abierta
CE <sub>50</sub>	Concentración Efectiva 50
COV	Canal de calcio operado por voltaje
COX	Ciclooxigenasa
Ca <sup>2+</sup>	Ión calcio
DPPH	Radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
ECV	Enfermedades cardiovasculares
E <sub>max</sub>	Efecto máximo
ENaC	Canal de sodio epitelial
G	Proteína G
GMP	5'-monofosfato de guanosina
GMP <sup>c</sup>	3',5' monofosfato de guanosina cíclico

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
GTP	5'-trifosfato de guanosina
IC	Insuficiencia cardíaca
IP3	Inositol 1,4,5-trifosfato
KCl	Cloruro de potasio
Kcal	Kilocalorías
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
L-arg	L-arginina
LO	Lipoxigenasa
NADPHox	NADPH oxidasa
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintasa
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Anión superóxido
OONO <sup>-</sup>	Peroxinitrito
OMS	Organización Mundial de la Salud
P450	Citocromo P450
PG-H <sub>2</sub>	Prostaglandina H <sub>2</sub>
PIP <sub>2</sub>	Fosfatidilinositol 4,5-bifosfato
PKC	Proteína cinasa C
PDE	Fosfodiesterasa
TEAC	Milimoles equivalentes de Trolox® por gramo de extracto.

## I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de muerte en todo el mundo (World Health Organization, 2011). Se estima que 7.3 millones de esas muertes son debidas a la cardiopatía coronaria y 6.2 millones a accidentes vasculares cerebrales (AVC); afectan por igual a ambos sexos, más del 80% se reportan en países en vías de desarrollo. Se calcula que en 2030 morirán cerca de 23.3 millones de personas por éstas; se prevé serán la principal causa de muerte en la humanidad (World Health Organization *et al.*, 2011).

En los últimos años, en nuestro país, se han incrementado las muertes relacionadas con problemas cardiovasculares no sólo en adultos, sino también en jóvenes y niños. Véase gráfica 1 (Mathers y Loncar, 2006).



GRÁFICA 1. Decesos por enfermedades no contagiosas en México.

La mayoría de las ECV se pueden prevenir focalizando esfuerzos para evitar factores de riesgo tales como: tabaquismo; dietas no balanceadas y obesidad; inactividad física; hipertensión arterial; diabetes o aumento de los lípidos. Alrededor de 9.4 millones y medio de muertes, es decir, 16.5% de los decesos anuales son atribuidos a la hipertensión -esto incluye el 51% de las muertes por AVC y el 45% de las muertes por cardiopatía coronaria- (Lim *et al.*, 2012). Los principales factores de riesgo son responsables de aproximadamente el 80% de los casos de cardiopatía coronaria y enfermedad cerebrovascular (World Health Organization, 2008).

Recientemente, la humanidad ha buscado nuevas alternativas de tratamiento y cura de enfermedades en la medicina herbolaria así como dietas saludables. Por ende, también, se interesa en el estudio de productos naturales como posible tratamiento de enfermedades cardiovasculares, siendo ésta, como ya se mencionó, la principal causa de muerte en todo el mundo (Duarte, *et al.*, 1993a).

Durante miles de años, en Europa, se utilizó el muérdago *Viscum album* en preparaciones para el tratamiento de la epilepsia, la infertilidad y la debilidad, pero los usos farmacológicos más reconocidos son sus efectos sobre el sistema cardiovascular (Benigni *et al.*, 1964; Wagner *et al.*, 1986) y la presión arterial (Youngken, 1951; Font Quer, 1962). Cabe señalar que algunos de los compuestos presentes en esta planta son los *flavonoides*.<sup>1</sup>

Existen varios flavonoides con acción vasorrelajante cuyos mecanismos de acción no están claros; la activación de canales de potasio (Carrol *et al.*, 1998) se ha indicado como una posible vía que ejerce mayoritariamente su efecto vasodilatador en el músculo liso vascular, aislado mediante un mecanismo relacionado con la inhibición de la proteína Cinasa C (PKC) o con alguno de los procesos activados por ella, aunque la inhibición de otras cinasas, de la actividad fosfodiesterasa (PDE) de nucleótidos cíclicos y el bloqueo de la entrada de calcio,

---

<sup>1</sup> Los flavonoides son compuestos de importancia en el estudio de las enfermedades cardiovasculares ya que se ha demostrado la existencia de una asociación inversa entre la ingesta diaria de éstos y la mortalidad a causa de una enfermedad coronaria. Este efecto cardioprotector podría explicarse por la combinación de propiedades antioxidantes, antiagregantes plaquetarias y vasodilatadoras (Serrano, 2010).

puede contribuir al efecto en mayor o menor medida (Duarte *et al.*, 2001; Khalil, 2006).

Otro mecanismo de acción involucra la activación de diferentes tipos de canales de potasio, expresados en el músculo liso vascular que representa uno de los mecanismos de acción de pequeñas moléculas sintéticas o naturales con actividad vasorrelajante. Por ello, se considera a los flavonoides como herramientas prometedoras para el tratamiento terapéutico de varios trastornos para los padecimientos coronarios y vasculares (Duarte *et al.*, 1993a).

Además, se ha demostrado que los polifenoles presentes en los flavonoides, poseen una estructura química ideal para secuestrar radicales libres lo que le aporta actividad antioxidante que es mayor a la producida por las vitaminas E y C, *in vitro*. También, debido a su efecto antioxidante, estas sustancias pueden prevenir la formación de placas de aterosclerosis en la prevención de la arterioesclerosis y el infarto del miocardio (Duarte *et al.*, 1995).

En los últimos años, se ha puesto de manifiesto su importancia como antioxidantes naturales y su papel beneficioso mediante su administración en la dieta diaria para la prevención de enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer, ya que actúan en diferentes niveles en el proceso de inducción y proliferación de los tumores (Hirano *et al.*, 1995). Muchas plantas contienen todos estos compuestos una de ellas es *Cladocolea loniceroides*, especie endémica de México, pertenece a la familia *Loranthaceae*: fuente prometedora de compuestos útiles para el tratamiento de este tipo de enfermedades. Son pocos los estudios acerca de su composición química y de su actividad biológica, y los encontrados son relativos a la taxonomía y al daño que provoca; es un problema fitosanitario en varias ciudades del país, entre ellas la ciudad de México (Cid-Villamil, 2006; Alvarado *et al.*, 2009).

## II. ANTECEDENTES

### ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

En 1995, la Organización Mundial de la Salud estimó que las enfermedades cardiovasculares representaban la causa más frecuente de mortalidad en el mundo por arriba de aquéllas ocasionadas por enfermedades infecciosas y parasitarias. Asimismo, reconoce, la OMS, que la epidemia de las enfermedades cardiovasculares avanza rápidamente tanto en los países desarrollados como en los que se encuentran en vías de desarrollo.

En América Latina y el Caribe, las enfermedades cardiovasculares representan el 31% del total de las defunciones. Se prevé que ocurrirán 20.7 millones de defunciones por ellas en esta región durante los próximos diez años ( Hirano *et al.*, 1995; Consejo Nacional de Población, 1999).

Las enfermedades cardiovasculares son un grupo heterogéneo de enfermedades que afectan tanto al sistema circulatorio como al corazón, por ejemplo: insuficiencias cardíacas, arteriosclerosis, angina de pecho, hipertensión arterial, hipercolesterolemia, infarto agudo de miocardio, enfermedad cerebrovascular, trombosis arterial periférica, entre otras.<sup>2</sup>

Los ataques al corazón y los accidentes vasculares cerebrales suelen ser fenómenos agudos que se deben sobre todo a obstrucciones que impiden que la sangre fluya hacia el corazón o hacia el cerebro.

---

<sup>2</sup> La cardiopatía coronaria es una enfermedad de los vasos sanguíneos que irrigan el músculo cardíaco (miocardio); las enfermedades cerebrovasculares son una afección de los vasos sanguíneos que irrigan al cerebro, y las arteriopatías periféricas son una enfermedad de los vasos sanguíneos que irrigan a los miembros superiores e inferiores.

## Insuficiencia cardiaca

La insuficiencia cardiaca es una afección grave, progresiva e irreversible que potencialmente puede abarcar la mayoría de los pacientes cardiopatas. No se trata de una enfermedad concreta, sino de un amplio síndrome; surge la dificultad para establecer una definición delimitada. Una de las más aceptadas es la propuesta por M. Packer (Braunwald *et al.*, 1999): *«Es la incapacidad del corazón para bombear la sangre necesaria para proporcionar los requerimientos metabólicos del organismo, o bien cuando esto sólo es posible a expensas de una elevación de la presión de llenado ventricular»*. Para comprender su fisiopatología y sus manifestaciones clínicas, el primero, (Packer, 1988), afirma que *«la insuficiencia cardiaca es un síndrome clínico complejo que se caracteriza por anomalías de la función ventricular izquierda y de la regulación neurohormonal, que conlleva intolerancia al ejercicio, retención de líquidos y disminución de la longevidad»* (Joint National Committee on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure, 1993). Desde un punto de vista clínico, se entiende por insuficiencia cardiaca al *«conjunto de síntomas y signos semiológicos que aparecen como consecuencia de la disfunción ventricular, de la afectación valvular o del aumento de la carga ventricular»* -en este sentido, las posibles manifestaciones son muy diversas y de aquí que se hayan enunciado criterios para facilitar su diagnóstico- (McKee *et al.*, 1971).

Muchos factores pueden afectar la presión arterial: alimentación; ingesta excesiva de agua y sal; salud de los riñones, del sistema nervioso o los vasos sanguíneos; nivel hormonal del individuo; *verbi gracia*. Por otro lado, los factores de riesgo más alto a sufrir hipertensión arterial son la obesidad, el estrés, la ansiedad, la alta ingesta de sal, la diabetes, el alcoholismo y el tabaquismo, la alimentación no balanceada...

## MECANISMOS DE VASORRELAJACIÓN

En la naturaleza existen varios flavonoides que tienen propiedades vasorrelajantes, debido a diferentes mecanismos de acción aún no aclarados por completo. Por ejemplo, la apigenina es vasodilatadora, debido a que muestra un mecanismo de acción dependiente del endotelio por la liberación de óxido nítrico endotelial (ONE), además de una actividad independiente de endotelio, probablemente mediada por la proteína Cinasa vía c. Otro ejemplo es crisina, flavona que posee tanto acción dependiente como independiente de endotelio, pero al igual presentando efecto vasorrelajante (Duarte *et al.*, 1993a).

La activación de muchos tipos de canales de potasio, expresado en el músculo liso vascular, representa un mecanismo de acción vasorrelajante. Realmente, esta clase de fármacos se puede unir a las otras clases de vasodilatadores disponibles, con el fin de ofrecer una mayor variedad de enfoques terapéuticos para el tratamiento clínico de la hipertensión.

En cuanto al mecanismo por el que los flavonoides disminuyen la presión arterial se ha propuesto que el canal de sodio epitelial (ENAC) tiene un papel crucial en la regulación de la presión sanguínea, contribuyendo además al mecanismo de reabsorción del catión sodio ( $\text{Na}^+$ ). Además, se ha observado que a cierta edad las arterias coronarias tanto de los seres humanos como de las ratas muestran una expresión media reducida de gran conductancia activadas por calcio en los canales de potasio (BK) y una disminución significativa de su modulación fisiológica. Por lo tanto, la activación de BK residuales por fármacos específicos podría ser vista como una estrategia terapéutica para compensar el deterioro de la capacidad vasodilatadora, que representa una causa del vaso espasmo coronario.

## Actividad vasorrelajante de los flavonoides

La importancia que en los últimos años han cobrado los flavonoides, para la investigación, se debe, en gran medida, a las propiedades para el tratamiento de enfermedades crónicas como las cardiovasculares.

Existen varios flavonoides, con acción relajante sobre el músculo liso vascular, descrita en experimentos *in vitro* sobre arterias aisladas de animales de laboratorio. La acción vasodilatadora es mayormente independiente del endotelio, aunque para algunos compuestos sí depende de éste (Álvarez y Orallo, 2003). Véase figura 1.

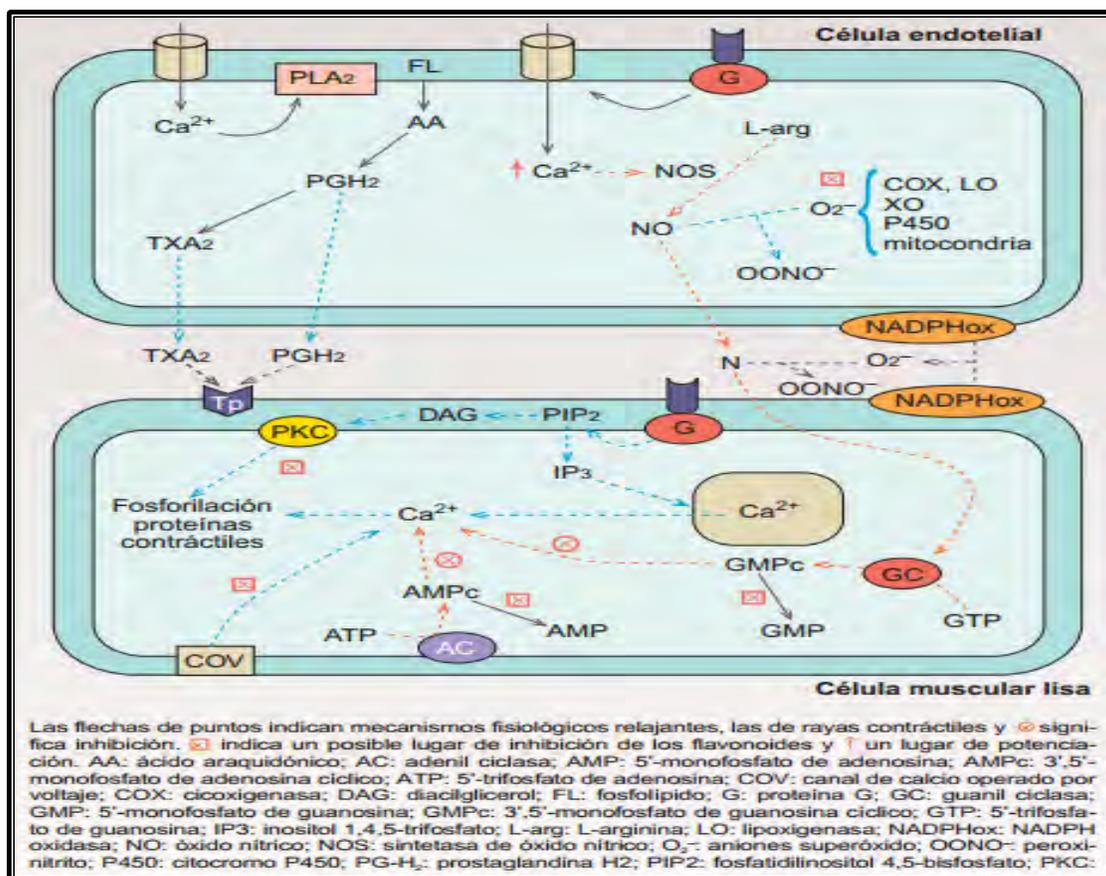


FIGURA 1. Mecanismos de relajación y contracción del músculo liso vascular, con el uso de los flavonoides.

## Endotelio

Según la vigésimo segunda edición del Diccionario de la lengua española, define el término endotelio (de *endo-* y el gr. *θηλή*, pezón del pecho) como un término sustantivo masculino utilizado en anatomía referido a un «*tejido formado por células aplanadas y dispuestas en una sola capa, que reviste interiormente las paredes de algunas cavidades orgánicas que no comunican con el exterior; como en la pleura y en los vasos sanguíneos*» (Real Academia Española, 2014).

La endotelina es un tejido que recubre la zona interna de todos los vasos sanguíneos, incluido el corazón, donde se llama endocardio. Ha dejado de considerarse una simple barrera que contiene al plasma y a las células de la sangre que permite el intercambio de nutrientes y desechos totales en un adulto de 70 kilogramos; tiene una longitud de 50 micrómetros y un ancho promedio de 10 micrómetros. Sus células consumen gran cantidad de energía debido a su activo metabolismo. La superficie de las células endoteliales está recubierta de receptores que permiten al endotelio realizar múltiples funciones, que se encuentran en continua investigación. Por eso, la disfunción endotelial es la responsable de numerosas enfermedades como la arteriosclerosis, la hipertensión arterial, la sepsis, la trombosis, la vasculitis, las hemorragias, entre otras. (Deanfield *et. al*, 2005).

### Relajación dependiente

El endotelio debido a su estratégica ubicación constituye un «*sensor*» de variaciones en las fuerzas hemodinámicas y de distintas sustancias bioquímicas producidas por las células sanguíneas y de otros tejidos, respondiendo a éstas por la liberación de sustancias autocrinas y paracrinas. Estas sustancias producen vasodilatación, en combinación del efecto antiagregante plaquetario y antiproliferativo o vasoconstricción, en unión con acción procoagulante y proliferativa (Schachinger *et al.*, 2000).

Si el endotelio mantiene un adecuado balance entre la producción de sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras, pro y anticoagulantes, pro y antiinflamatorias, pro y antiproliferativas se mantendrá la homeostasis vascular. El desequilibrio de este balance altera la función endotelial que ante estímulos vasodilatadores responda con vasoconstricción paradójica o con vasodilatación insuficiente, y, con ello, además, una predisposición a la adherencia leucocitaria, activación plaquetaria, trombosis, inflamación vascular y, finalmente, aterosclerosis. Esta alteración de la función del endotelio se conoce como disfunción endotelial (DE). La dilatación del endotelio, es el resultado de la descarga de óxido nítrico, del factor de hiperpolarización derivado del endotelio, de las prostaciclina y de otras sustancias vasoactivas, en respuesta al estrés.

Los estímulos farmacológicos, acetilcolina, metilcolina e insulina, inducen la liberación de sustancias vasoactivas: como el óxido nítrico que influye así en el tono vascular y en el diámetro de las células musculares lisas de la capa media arterial. Cuando se produce una alteración del endotelio, por ejemplo: reducción del óxido nítrico y del factor de hiperpolarización del endotelio o incremento de endotelina y de Tromboxano A<sub>2</sub> se favorece la vasoconstricción, la inflamación y la proliferación de las células vasculares del músculo liso (Duarte *et al.*, 1993b; Ibarra *et al.*, 2002; Pérez-Vizcaíno *et al.*, 2002).

### Relajación independiente

Los mecanismos que explican estos efectos son variados y engloban la acción sobre la PKC y otras cinasas, la entrada de calcio en la célula y la actividad PDE. Los canales de potasio de la membrana no parecen intervenir en la respuesta vasodilatadora de los flavonoides.

La actividad de determinadas cinasas está relacionada con la función contráctil de las células musculares y los flavonoides pueden modificar el funcionamiento de estas enzimas. Tanto los requerimientos estructurales para la inhibición como para su potencia sobre la PKC del cerebro de rata, se correlacionan bastante bien con los requerimientos y la potencia de la acción vasodilatadora. Los flavonoles y flavonas

son los inhibidores más activos. Las chalconas se comportan como inhibidores más débiles y las flavanonas son generalmente inactivas. Sin embargo, no se dispone de información sobre los efectos de los flavonoides en las diversas isoenzimas de la PKC presentes en el tejido vascular (Adriambeloston *et al.*, 1998).

La cinasa, de la cadena ligera de miosina, es otra enzima esencial en el desarrollo de la contracción en el músculo liso. Parte del efecto vasodilatador de los flavonoides se puede atribuir al bloqueo de los canales de calcio activados por voltaje.

La inhibición de la respuesta a la liberación del calcio intracelular que se observa con algunos flavonoides puede deberse a la disminución de la sensibilidad a este ion como resultado de la inhibición de la PKC más que al vaciamiento de los *depósitos intracelulares*.

El incremento en los valores celulares de nucleótidos cíclicos participa en la relajación del músculo liso vascular. Algunos flavonoides son capaces de inhibir la actividad de las PDE de 3',5'-monofosfato de guanosina cíclico (GMP'c) y de 3',5'-monofosfato de adenosina cíclico (AMP'c), enzimas responsables de la degradación de estos nucleótidos que incrementan de ese modo su concentración, lo que puede contribuir a la acción relajante. Parece, además, que existe una relación entre la estructura del flavonoide y su acción sobre las distintas isoformas de este tipo de enzimas (Ferriola y Middleton, 1989).

## ANTIOXIDANTES

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres que comienzan reacciones en cadena que dañan las células. Los antioxidantes terminan estas reacciones quitando intermedios del radical libre e inhiben otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos. Debido a esto es que los antioxidantes son a menudo agentes reductores tales como tioles o polifenoles. Los antioxidantes se encuentran contenidos en el olivo, el ajo, el arroz

integral, el café, la coliflor, el brócoli, el jengibre, el perejil, la cebolla, los cítricos, la semolina, los tomates, el aceite de semilla de la vid, el té, el romero, entre otros. También son parte importante constituyente de la leche materna.

Aunque las reacciones de oxidación son cruciales para la vida, también pueden ser perjudiciales; por lo tanto las plantas y los animales mantienen complejos sistemas de múltiples tipos de antioxidantes, tales como glutatión, vitamina C, y vitamina E, así como las enzimas catalasa, superóxido dismutasa y varias peroxidasas, por ejemplo. Los niveles bajos de antioxidantes o la inhibición de las enzimas antioxidantes causan estrés oxidativo y pueden dañar o matar las células.

El estrés oxidativo ha sido asociado a la patogénesis de muchas enfermedades humanas, es por ello que el uso de antioxidantes en farmacología es estudiado de forma intensiva, particularmente, como tratamiento para accidentes cerebrovasculares y enfermedades neurodegenerativas. Sin embargo, se desconoce si el estrés oxidativo es la causa o la consecuencia de tales enfermedades. Los antioxidantes también son ampliamente utilizados como ingredientes en suplementos dietéticos con la esperanza de mantener la salud y de prevenir enfermedades tales como el cáncer y la cardiopatía isquémica. Aunque algunos estudios han sugerido que los suplementos antioxidantes tienen beneficios para la salud, otros grandes ensayos clínicos no detectaron ninguna ventaja para las formulaciones probadas y el exceso de la suplementación puede llegar a ser dañino. Además de estas aplicaciones en medicina, los antioxidantes tienen muchas aplicaciones industriales, tales como conservadores de alimentos y cosméticos y la prevención de la degradación del caucho y la gasolina. (Deanfield *et. al*, 2005).

### **Actividad antioxidante**

Por definición, la actividad antioxidante es la capacidad de un compuesto de inhibir la degradación oxidativa (Álvarez y Orallo, 2003). Una de las estrategias más aplicadas en las medidas *in vitro* de la capacidad antioxidante total de un compuesto, mezcla o alimento, consiste en determinar la actividad del antioxidante

frente a sustancias cromógenas de naturaleza radical; la pérdida de color ocurre de forma proporcional con la concentración. No obstante, las determinaciones de la capacidad antioxidante realizadas *in vitro* muestran únicamente una idea aproximada de lo que ocurre en situaciones complejas *in vivo*. La medición de la actividad antioxidante en un ensayo individual refleja sólo la reactividad química bajo ciertas condiciones de la prueba, por lo que es inapropiado generalizar los datos de un método de medición en particular, como indicador de actividad antioxidante total (Roginsky y Lissi, 2005).

### Clasificación

Los antioxidantes son sustancias sintéticas o naturales que, presentes en bajas concentraciones comparadas con las biomoléculas que deben proteger, previenen la oxidación o inhiben reacciones promovidas por oxígeno y peróxidos. Muchas de estas sustancias son utilizadas como conservadores de varios productos para evitar su deterioro (Roginsky y Lissi, 2005). Los antioxidantes son fuertes agentes reductores debido a las propiedades de oxidorreducción de los grupos hidroxilo y las relaciones estructurales entre diferentes partes de su estructura química; ejercen sus propiedades protectoras previniendo la producción de radicales libres o neutralizando los producidos en el cuerpo (Hung y Prior *et al.*, 2005).

Se conocen tres tipos principales de antioxidantes: *Primarios*, previenen la formación de nuevos radicales libres, convirtiéndolos en moléculas menos perjudiciales antes de que puedan reaccionar o evitando la formación de radicales libres a partir de otras moléculas; *Secundarios*, capturan los radicales libres, evitando la reacción en cadena, y *Terciarios*, reparan las biomoléculas dañadas por los radicales libres (Hung y Prior *et al.*, 2005). Un gran número de plantas aromáticas y medicinales contienen compuestos químicos con propiedades antioxidantes. El descubrimiento de estas propiedades resulta interesante y útil,

particularmente, como nuevas fuentes de antioxidantes naturales, alimentos funcionales<sup>3</sup> y nutraceuticos<sup>4</sup> (Robertfroid, 2000; Morales *et al.*, 2009).

#### PLANTAS MEDICINALES UTILIZADAS PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

Muchas plantas contienen una serie de principios activos que incorporados a nuestro organismo ejercen una actividad propia, en mayor o menor grado, pero para que una planta sea considerada «*medicinal*» debe contener principios activos capaces de curar o ayudar al tratamiento de enfermedades. Estos principios activos son sustancias elaboradas por la propia planta o almacenadas en sus tejidos.

Es de vital importancia recolectar correctamente la planta, transportarla y tratarla a fin de aislar los principios activos que contiene. No se debe transportarla en bolsas plásticas, pero sí proceder a deshidratarla inmediatamente al aire libre, sin la incidencia directa del sol, evitando las altas temperaturas ya que se pueden perder algunos aceites esenciales y el principio activo de la muestra; para almacenarla se debe cuidar las condiciones de humedad y luz, factores que aceleran su degradación posterior. En la siguiente tabla se enlista algunas plantas medicinales utilizadas para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares (de la Cruz, 2011).

---

<sup>3</sup> Los *alimentos funcionales* (en literatura especializada se suele abreviar como *AF*) son aquellos alimentos que son elaborados no sólo por sus características nutricionales sino también para cumplir una *función específica* como puede ser el mejorar la salud y reducir el riesgo de contraer enfermedades. Para ello se les agregan componentes biológicamente activos, como minerales, vitaminas, ácidos grasos, fibra alimenticia, antioxidantes, entre otros. A esta operación de añadir nutrientes exógenos se le denomina también *fortificación*. Este tipo de alimentos es un campo emergente de la ciencia de los alimentos que ve una posibilidad muy amplia de investigación alimentaria. Entre los logros más mencionados en la literatura científica y en el *marketing* de los productos alimenticios se encuentra la mejora de las funciones gastrointestinales, el aporte de sistemas redox y antioxidante, así como la modificación del metabolismo de macronutrientes.

<sup>4</sup> Los *alimentos nutraceuticos* (deriva de «*nutrición*» y, según algunos, «*farmacéutico*», o según otros «*terapéutico*») es el nombre que engloba el concepto de la curación a través de la nutrición. El nombre fue acuñado en Cranfor, Nueva Jersey, Estados Unidos por el doctor Stephen DeFelice, Presidente de la Fundación para la Innovación en Medicina (*Foundation for Innovation in medicine, FIM*) en 1989 que definió la *nutraceutica* como «*un alimento, o parte de un alimento que proporciona beneficios médicos o para la salud, incluye la prevención o tratamiento de enfermedades*».

NOMBRE DE LA PLANTA	PROPIEDADES MEDICINALES
<p>Digoxina (<i>Digitalis lanata</i>)</p> 	<p>Extracción de la digoxina que es un glucósido cardiotónico usado como agente antiarrítmico en la insuficiencia cardíaca e inhibe la bomba <math>Na^+-K^+-ATPASA</math> en el corazón, disminuyendo la salida de <math>Na^+</math> y aumentando los niveles de <math>Ca^{+2}</math> intracelular, aumentando la fuerza de contracción del músculo cardíaco; efecto indirecto: inhibición la bomba <math>Na^+-K^+-ATPASA</math> a nivel neural que crea una estimulación vagal que disminuye la frecuencia cardíaca y la estimulación simpática.</p>
<p>Rauwolfia (<i>Rauwolfia serpentina</i>)</p> 	<p>Acción inhibitoria de los nervios adrenérgicos que agotan las reservas de catecolaminas e hidroxitriptamina (una hora después de administrar este alcaloide, se observa una lenta disminución de la presión arterial). Asimismo, esta sustancia se comporta como vasodilatador periférico.</p>
<p>Ajo (<i>Allium sativum</i>)</p> 	<p>Principio activo más destacable está la alicina, antihipertensivo que tiene un compuesto llamado sulfuro de hidrógeno que facilita la distensión de las membranas celulares vasculares, la presión sanguínea y favorece la circulación de transporte de oxígeno mediante la hemoglobina de los glóbulos rojos a los órganos y, por consecuencia, implica una menor fatiga para el corazón. Por otro lado es hipolipemiente (disminuye el nivel de colesterol LDL en la sangre produciendo un efecto cardioprotector); es un vasodilatador, causa un aumento del calibre de los capilares; es antiagregante plaquetario, impide la tendencia excesiva de las plaquetas sanguíneas a agruparse formando coágulos, y también actúa como fibrinolítico, al aumentar la fluidez en la sangre. Además, el ajo, actúa como hipoglucemiante, normaliza el nivel de glucosa sanguínea. Por lo anterior, es uno de los alimentos y remedios naturales más estudiados en el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares como la presión arterial alta, el colesterol y las cardiopatías.</p>

TABLA 1. Plantas medicinales utilizadas para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

NOMBRE DE LA PLANTA	PROPIEDADES MEDICINALES
<p data-bbox="282 363 568 422">Espino albar (<i>Crataegus oxyacantha</i>)</p> 	<p data-bbox="651 300 1490 831">Posee propiedades vasodilatadoras de las arterias coronarias lo que favorece la circulación de la sangre. Los principales componentes son flavonoides, minerales de calcio, potasio y magnesio. Los flavonoides y la vitamina c, neurotransmisores de dopamina y purina, confieren estas propiedades. Posee características cardiotónicas ya que ayudan a bombear la sangre con más fuerza para favorecer la irrigación sanguínea al corazón. Útil para prevenir infartos al miocardio y mitigar taquicardias por regular el ritmo cardiaco del corazón; ayuda a prevenir la arteriosclerosis, por ser muy eficiente para mejorar la circulación sanguínea, ya que dilata las arterias; además, por su función antihipertensiva, ayuda a bajar la presión sanguínea elevada al aumentar el tamaño de los vasos sanguíneos.</p>
<p data-bbox="224 867 561 898">Jengibre (<i>Zingiber officinale</i>)</p> 	<p data-bbox="651 884 1490 1045">Favorece la circulación sanguínea; ayuda a disolver trombos en las arterias, al disminuir los niveles de colesterol en sangre, anginas de pecho, y además, ayuda a prevenir una serie de enfermedades vasculares.</p>
<p data-bbox="250 1110 600 1142">Alcachofa (<i>Cynaras colymus</i>)</p> 	<p data-bbox="651 1146 1490 1308">Capacidad de disminuir el colesterol en sangre y la presión arterial. Ayuda a prevenir la arterioesclerosis por sus componentes ácidos, principalmente. Así mismo, ayuda en la recuperación de infartos, anginas de pecho y mala circulación.</p>
<p data-bbox="256 1398 594 1430">Té verde (<i>Camellia sinensis</i>)</p> 	<p data-bbox="651 1434 1490 1638">Capacidad de disminuir el colesterol, fluidificar la sangre y tonificar el corazón para protegerlo contra un infarto de miocardio o angina de pecho. Algunos componentes: histidina, antiarteriosclerótico; tenina, que además de las funciones anteriores impide la formación de trombos, y teobromina, vasodilatador y cardiotónico.</p>

TABLA 1 (cont.).

NOMBRE DE LA PLANTA	PROPIEDADES MEDICINALES
<p data-bbox="277 300 574 331"><i>Alfalfa (Medicago sativa)</i></p> 	<p data-bbox="651 300 1490 604">La alfalfa es rica en vitamina K, importante para que el hígado produzca la hormona protrombina que interviene en la coagulación de la sangre; ayuda a resolver problemas de hematomas producidos por algún golpe. Uno de los beneficios más importantes para la salud es el papel vital que desempeña como un controlador efectivo de colesterol por disminuir los niveles en la sangre y evitar que permanezca en las paredes arteriales.</p>
<p data-bbox="342 657 509 688"><i>Ginkgo biloba</i></p> 	<p data-bbox="651 705 1490 919">Capacidad de dilatar los vasos sanguíneos para facilitar que la sangre circule más fluidamente. Posee flavonoides que ejercen una acción dilatadora sobre las paredes de las arterias y capilares al mismo tiempo que impiden que las plaquetas sedimenten dentro de los vasos sanguíneos para ayudar a tratar la arteriosclerosis y la hipertensión.</p>
<p data-bbox="269 993 583 1024"><i>Muérdago (Viscum álbium)</i></p> 	<p data-bbox="651 1024 1490 1329">Acción hipotensiva (funciona sobre el sistema vasomotor central) y cardiotónica. Es vasodilatador, provoca dilatación de los capilares y actúa contra la arterioesclerosis; fortalece, estimula, tonifica y regula la función del corazón; reduce las excitaciones y actúa como tranquilizante del sistema nervioso; útil en hemorragias congestivas, varices, y tiene acción antiespasmódica. Las sustancias contenidas en el muérdago son básicamente la viscotoxina, la colina y la acetilcolina.</p>

TABLA 1 (cont.).

### III. OBJETO DE ESTUDIO

#### MUÉRDAGO

Aunque no existe la certeza del origen etimológico de la palabra, se cree que proviene del latín *mordicus*, es decir, mordedor. (Marchal, 2009).

Según la vigésimo segunda edición del Diccionario de la lengua española, define el término muérdago como el nombre común de «*algunas plantas parásitas, siempre verdes, de la familia Loranthaceae que viven sobre los troncos y ramas de los árboles*» (Real Academia Española, 2014).

Los muérdagos llamados «*verdaderos*» son plantas dicotiledóneas, siempre verdes, a las que también se les dice, en distintos lugares de América Latina, «*injerto*», «*matapalo*», «*secapalo*», «*palo de caballero*», «*hierba de pájaro*» y «*planta de la liga*» (Marchal, 2009). Se le conoce también como *tepelcatl*, *najtahuala* (totonaco), *tepalcatl* (nahua) y *mistletoe* (inglés).



FIGURA 2. Árbol con muérdago.

## Aspectos sociohistóricos

Desde la antigüedad, al muérdago se le han atribuido tanto propiedades curativas como mágicas, muchas de ellas carecen de base científica. Hipócrates lo empleaba para tratar la epilepsia, entre otros males. El historiador romano Plinio describe en su *Historia Natural* de qué manera los antiguos sacerdotes y magos celtas utilizaban el muérdago, considerado una planta mágica. Su recolección se desarrollaba siguiendo un complejo ritual que incluía fechas muy concretas de «*recogida*», siempre próximas al solsticio de invierno, y la utilización de «*herramientas específicas*», generalmente una hoz de oro. Una vez cortado, se colocaba en una prenda blanca para evitar su contacto con la tierra o que cayera al suelo. Además, en la mitología, el muérdago ha ejercido una particular fascinación sobre diversas culturas, una de ellas, la costumbre de que la pareja enamorada se besara debajo de él por considerarse que ese beso perduraría el amor. Para los escandinavos, era un símbolo de paz, bajo esta planta se declaraban las treguas entre enemigos y las reconciliaciones entre esposos.

Una leyenda dice: «*sus poderes mágicos provienen de que fue creado como un elemento que no es del cielo ni de la Tierra, porque sus raíces no tocan nunca la tierra, pero tampoco se sostiene por sí mismo en el aire*» (Marchal, 2009). De aquí surge la costumbre o tradición de recogerlo sin que caiga al suelo y de colgarlo del techo.

En 1920, Rudolf Steiner propuso el uso del extracto acuoso de muérdago como parte en la terapia contra el cáncer, dado su efecto citotóxico. Actualmente, ésta continúa en uso; pero, bajo estudio y experimentación. Además, se han registrado efectos adversos. Laboratorios especializados siguen investigando sus propiedades citotóxicas e inmunoestimulantes (Marchal, 2009).

En otras culturas lo consideraban un poderoso amuleto protector, lo colgaban en la cabecera de las cunas de los niños para evitar que las hadas se los robaran.

Otra cualidad atribuida al muérdago es su utilización como potenciador de la fertilidad o como una cura para la epilepsia. Además, los *Walos* de Senegambia, África, llevaban muérdago cuando iban a la batalla para proteger contra heridas.

## Características físicas y ciclo biológico

El muérdago es de apariencia redondeada, en general, tienen un tronco corto, ramas abundantes y repetidamente ahorquilladas, de manera que forman ya sea una densa mata que cuelga del árbol parasitado o bien una intrincada enredadera que cubre la copa del árbol; es una planta dioica, es decir, que existen pies machos y pies hembras, separados. Tanto las flores masculinas como las femeninas son rudimentarias y simples, la polinización se realiza a través de insectos y vientos durante los meses de febrero y marzo.

Una vez fecundadas, las flores dan lugar a unas bolas verdes que posteriormente van adquiriendo su aspecto característico de bayas. En el interior se alberga sólo una semilla rodeada de un tejido mucilaginoso y pegajoso.

La maduración del fruto se produce en las primeras semanas del invierno, dependiendo del biotipo en el que esté establecido, en el caso de *Cladocolea loniceroides* los frutos maduran entre agosto y diciembre, germinan durante la primavera. Los frutos sirven de alimento para varias especies, animales, principalmente aves que intervienen más directamente en la diseminación.<sup>5</sup> Las semillas después de haber pasado por el tracto digestivo de los propagadores son expulsadas quedando adheridas, gracias a la visina, que la hace mucilaginosa (pegajosa) en el hospedero; el visco germinará inmediatamente anclándose mediante su raíz a través de la corteza del árbol parasitado que forma un engrosamiento en la rama donde forma los haustorios (órganos succionadores de savia y penetradores que se introducen en los tejidos vasculares del árbol creando un abultamiento). Posteriormente, la planta desarrollará un tallo aéreo exterior que tendrá como particularidad su gran potencia de succión de savia. Estas raíces modificadas desarrollan células tanto de penetración como de fijación a la rama. Van creciendo a través de los tejidos primarios y secundarios del hospedero,

---

<sup>5</sup> Las aves más importantes que ayudan en este proceso son el zorzal charlo (*Turdus vicivorum*), el zorzal común (*Turdus philamelas*), el zorzal real (*Turdus pilaris*) y el zorzal alirrojo (*Turdus aliacus*); la urraca (*Pica pica*) y el arrendajo (*Garrulus glandarius*), aunque estos dos últimos con menor importancia. También intervienen en la propagación mamíferos como la marta (*Martes martes*) y la ardilla (*Sciurus vulgaris*).

separando la corteza externa, el córtex, el floema, hasta llegar al xilema, del que absorben aproximadamente el 90% de los recursos que requieren. Además de absorber agua y sales minerales del xilema y algunos compuestos orgánicos del floema, los haustorios liberan hacia el árbol reguladores de crecimiento que mantienen abiertas las vías de intercambio de recursos y minimizan las reacciones defensivas del árbol. Si la invasión resultara muy agresiva, la rama podría compartimentar el tejido y la infección fracasaría. Es decir; el muérdago debe mantener permanentemente «*engañada*» a la rama haciéndole creer que es parte suya, para así obtener de ella lo que necesita. Se establece una continuidad entre el xilema de la planta hospedera y el de la parásita. Conforme el haustorio se expande, se va convirtiendo en un estrangulador funcional de la rama. A partir del sitio de inserción del muérdago, la punta de la rama termina por ser totalmente estrangulada y compartimentada.

Por otro lado, el muérdago ya establecido mantiene sus estomas ampliamente abiertos, por lo que tiene un potencial de agua más negativo que el del árbol. Así, es capaz de succionar grandes cantidades de agua del árbol, en ocasiones más del doble del volumen que requeriría un área superficial equivalente del follaje del mismo. Con el tiempo, el muérdago gana área de follaje a costa del árbol ya que se desarrolla de forma dicotómica bifurcándose anualmente en dos ramillas a partir de cada yema. Esta disposición da lugar a una mata semiesférica característica. Por lo demás, el sitio de infección se convierte en una estructura débil, por la que pueden entrar al árbol hongos, bacterias e insectos (Bernal, 2010).

## **Clasificación**

Existen muy diversas clasificaciones de los muérdagos que muestra lo mucho que aún está por saberse y por determinarse de ellos. Una de estas clasificaciones señala que todos los muérdagos pertenecen a la familia *Loranthaceae*, reúne a unos 40 géneros agrupados en dos subfamilias *Loranthoidae* (muérdagos gigantes o tropicales) y *Viscoideae* (muérdagos enanos o templados). Sin embargo, otra clasificación más difundida divide a los muérdagos en: *Lorantáceas* (910

especies), familia de plantas generalmente arbustivas, epífitas, hemiparásitas u holoparásitas, siempre con clorofila, y *Viscáceas* (350 especies), familia integrada por plantas hemiparásitas epífitas obligadas, de hojas verdes persistentes. Ampliamente extendida por las zonas forestales desde los trópicos de las regiones templadas. El género *Struthanthus* se encontró asociado a árboles de dimensiones de porte, diámetro de fuste y diámetro de copa grandes, contrario a lo ocurrido con el género *Cladocolea*, que se encontró en especies de árboles de dimensiones de porte, diámetro de fuste y diámetro de copa pequeños (Marchal, 2009).

El género *Viscum album* divide sus tallos desde la base en varios ramos, desparramados, ahorquillados, cilíndricos y divididos por nudos, armados de pequeñas púas. Sus hojas son lanceoladas, crasas, carnosas y sus flores dioicas (masculinas y femeninas) son de color amarillo. El muérdago adulto puede llegar a medir hasta un metro y crece encima de las ramas de diversos árboles, principalmente árboles de hoja caduca, como manzanos, álamos, pero también sobre algunas variedades de pinos.

### **Distribución geográfica**

Existen cientos de especies de muérdago en todo el mundo que constituyen un serio problema en bosques naturales, plantaciones, huertos frutícolas y árboles urbanos. Varias especies se encuentran en lugares como América del Norte, Asia, Europa, Australia y Corea.

Algunos países europeos, por ejemplo, en donde predominan las coníferas, tiene una importante presencia de *Viscum album*. En el sureste de los Estados Unidos, todos los muérdagos (excepto uno) pertenecen al género *Phoradendron*. En Chile, encontramos, entre otros, *Tristerixa phyllus*, pero, en la mayoría de los países sudamericanos prevalece *Tripodanthu sacutifolius*. Caso particular es la ciudad de Curitiba, Brasil, donde aproximadamente la tercera parte de los árboles urbanos se encuentran infestados por esta especie, que durante su floración

exhala un aroma tan agradable, que todos los habitantes de dicha ciudad la encuentran «*encantadora*», y no permiten que se les quite a sus árboles.

En la República mexicana, la Comisión Nacional Forestal reporta presencia de muérdago en la mayoría de los estados. Los estudios que han emprendido diversos especialistas arrojan problemas en los estados de Michoacán, Veracruz, Tlaxcala, Morelos, Oaxaca, Guerrero y Querétaro (Marchal, 2009), no obstante, existe un gran desconocimiento respecto a su biología, fisiología y otros aspectos así como, de las medidas silvícolas para su control (REDFORESTA, 2010).

### El muérdago en la Ciudad de México

En la actualidad, en la Ciudad de México se encuentran árboles y arbustos infestados por *Struthanthus quercicola*, *Cladocolea loniceroides*, *Phoradendron velutinum*, *Struthanthus sp.*, *Psittacanthus calyculatus*, *Arceuthobium sp.* y *Cladocolea sp.*

Algunas plantas parásitas muestran «*gusto*» por alguna especie e incluso por la variedad del hospedero que eligen. En ese sentido, hace años, en la ciudad de México podía observarse cierta diferencia entre las especies arbóreas que cada una de las dos principales especies de muérdago prefería. *Struthanthus quercicola* elegía truenos, jacarandas, alamillos y ahuehuetes; a *Cladocolea loniceroides* le gustaba más los fresnos, los olmos chinos y los sauces. Podían incluso observarse dos regiones más o menos definidas por una u otra especie. Pero con el paso del tiempo la infestación ha llegado a un grado tal que las especies y las regiones se han traslapado por lo que no es difícil encontrar especies con los dos muérdagos, incluso simultáneamente. También es cierto que cada vez hay menos especies arbóreas totalmente libres de algún tipo de muérdago (Marchal, 2009). Véase figura 3.

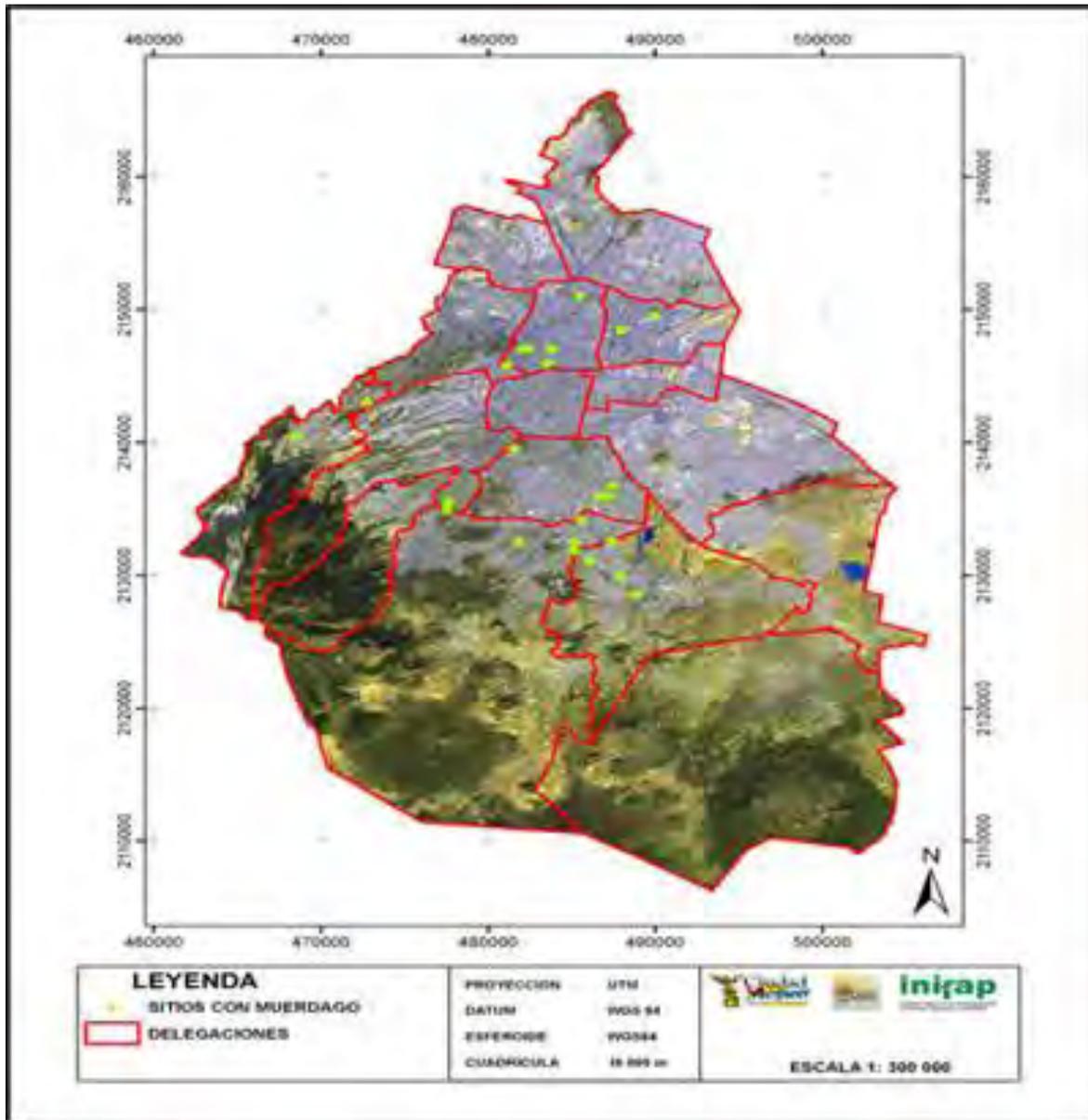


FIGURA 3. Mapa que muestra los sitios infestados por muérdago en la zona urbana del Distrito Federal, señalados en puntos color verde.

## Composición química

Entre sus principales componentes químicos está la lectina: viscumina o ML-1 (por el inglés mistletoe lectin 1), ML-2, ML-3. Predominan en el invierno, en bayas maduras y troncos añosos otros componentes importantes como los fenilpropanos y lignanos (hojas): siringenina 4' glucósido, siringarresinol 4'-4'' diglucósido (eleuterósido E, metil-mucoinositol (1-6%)). Se han identificado alcaloides (viscumbina), viscotoxinas (I, II, III, IV, A1, A2, A3, B, PS-1), ácido caféico y sus derivados, polisacáridos (galacturanos en tronco, hojas y arabino galactanos en bayas).

El muérdago es una especie que, debido a su gran cantidad de principios activos, ha sido investigado con gran inquietud, por ejemplo los metabolitos secundarios encontrados, a saber: *viscotoxinas*, *lignanos*, *acetilcolina*, *ácido cafeínico*, *polipéptidos* y *flavonoides*.

Los polifenoles se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas y son conocidos como *flavonoides* que pueden ser divididos en 4 clases: *flavonas*, *flavonoles*, *flavonoles* y *antocianinas*. Véase figura 4.

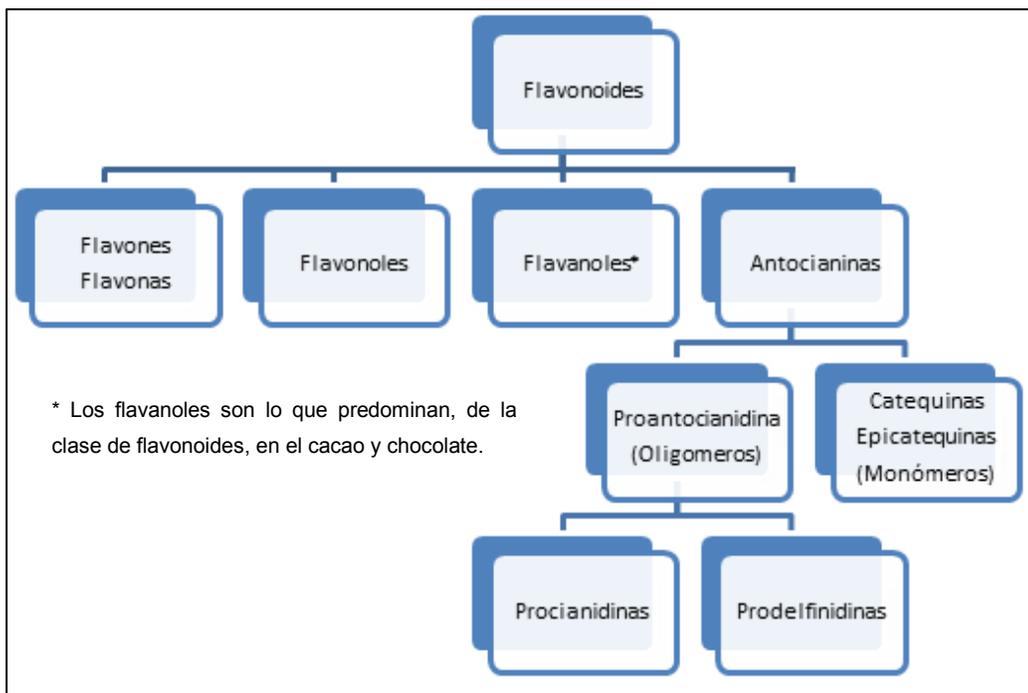


FIGURA 4. Familia de los flavonoides.

Los flavonoides han sido ampliamente reconocidos por su actividad de capturar a los radicales libres (RL) un ejemplo de esto es la (-)-epicatequina. Es un tipo de flavonoide presente en diversos productos comestibles, principalmente en vegetales o frutos, pertenece al grupo de las catequinas (epicatequina: C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>). Su nombre químico es: 2 (3,4-DIHIDROXIFENIL)-3,4-DIHIDRO-, (2R, 3R)-2H-1-BENZOPIRAN-3,5,7-TRIOL, (Natsume *et al.*, 2004). Véase figura 5.

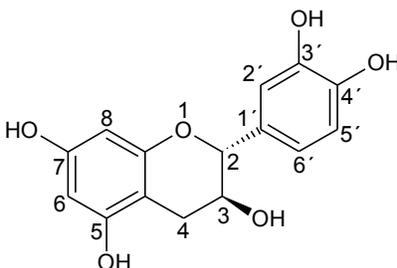


FIGURA 5. Estructura de la (-)-epicatequina.

En cuanto a la farmacocinética, se sabe que tras la administración oral, la mayoría de los flavonoides se metabolizan en el tracto gastrointestinal y se absorben, pasando a la sangre. Se ha demostrado que en los seres humanos por la ingestión de cacao en polvo, la (-)-epicatequina se absorbe por vía intestinal y es distribuida en forma metilada en sangre y como una variedad de conjugados antes de ser excretados en la orina (Baba *et al.*, 2000).

Algunos de los efectos en la zona cardiovascular han demostrado que los flavonoides dan buena dosis-respuesta y biodisponibilidad en humanos. Existen varios mecanismos de cómo los flavonoides pueden proteger contra las enfermedades cardiovasculares, entre ellas: como antioxidantes, antiplaquetario, efectos antiinflamatorios, así como posiblemente aumento de las lipoproteínas de alta densidad, reducir la presión arterial, mejorar la función endotelial, prevenir el infarto al miocardio, disminuir el área post infarto y disminuir el daño por isquemia/reperfusión.

## Toxicidad del muérdago

Las bayas del *Viscum album* son altamente tóxicas por su contenido de viscotoxina, la ingestión de quince de ellas causa intoxicación en forma de alteraciones nerviosas y cardíacas; unas veinticinco, pueden provocar la muerte por depresión de los centros bulbares respiratorios y cardíacos. Se ha descrito un caso de hepatitis relacionada con la ingesta de preparados a base de muérdago.

La viscotoxina posee una acción necrotizante local. Su uso, en presencia de hipertensión, cardiopatías o insuficiencia renal moderada o grave, sólo debe hacerse por prescripción y bajo control médico. Por su contenido en tiramina, el muérdago puede desencadenar crisis hipertensivas en pacientes que están siguiendo un tratamiento antidepresivo con inhibidores de la monoaminoxidasa (Murray *et al.*, 2004). Los efectos secundarios habituales de la inyección de muérdago incluyen dolor e inflamación en el lugar de la aplicación, dolores de cabeza, fiebre y escalofríos (Castroviejo *et al.*, 1997). Sin embargo, en dosis altas puede llegar a causar la muerte, o por lo menos graves problemas en la salud. Adicionalmente, la toxicidad del muérdago varía de acuerdo con la especie del árbol sobre el cual creció (Coder, 2006).

## Usos

### Propiedades medicinales y farmacológicas

En primer lugar, el muérdago europeo se utiliza para reducir la presión arterial y disminuir la frecuencia cardíaca rápida, aliviar el nerviosismo e inducir el sueño. Cuando se utiliza en pequeñas dosis, el muérdago ayuda a proporcionar alivio de los dolores de cabeza, ataques de pánico y, al mismo tiempo, aumenta la concentración. Los herbolarios prescriben especialmente muérdago europeo para tratar la epilepsia y el tinnitus (un zumbido o una sensación similar en el oído). En homeopatía se emplea en arteriosclerosis y mareos. Interacciona con

medicamentos antihipertensivos y diuréticos, se debe advertir al paciente sobre el riesgo de la automedicación (Nogué *et al.*,)

Desde hace más de 80 años, un extracto acuoso estandarizado del muérdago europeo *Viscum album* y *Viscum coloratum* con actividad citotóxica se utiliza en clínicas de Alemania y Suiza como coadyuvante en la terapia de diferentes tipos de cáncer, especialmente el cáncer de mama; en el control de epilepsia; desórdenes nerviosos; delirio; asma; hipertensión; dolor de cabeza y dermatitis (Khwaha, 1996).

El muérdago podría ser fuente de compuestos bioactivos y coadyuvante en el tratamiento de algunas enfermedades crónico degenerativas. El descubrimiento de estas propiedades resulta interesante y útil particularmente como fuente de AOX naturales, alimentos funcionales y nutracéuticos (Miliauskas *et al.*, 2004).

El perfil de la composición química de la planta junto con el conocimiento de su actividad antioxidante (AAOx) puede proporcionar una estimación de su potencial terapéutico (Akinmoladun *et al.*, 2007).

En la actualidad, los preparados de muérdago que se usan en fármacos, son de los más prescritos para pacientes con cáncer en varios países europeos. Sus partidarios sostienen que sus extractos estimulan el sistema inmunológico, incrementan la supervivencia, mejoran la calidad de vida y reducen los efectos adversos de la quimio y radioterapia (Marchal, 2009).

## Fitoterapia

Se han utilizado las hojas, en medicina popular, como hipotensor, vasodilatador, antiepiléptico y diurético. En la herbolaria, se utiliza la planta entera, desecada y triturada, como antiespasmódica, hipotensora, vasodilatadora, cardiotónica y diurética (Marchal, 2009).

## Especie *Cladocolea Ioniceroides* (CL)

El CL es el primer «muérdago» documentado que fue introducido accidentalmente a una zona urbana. En 1971, se observó en *Ligustrum spp.*, en la ciudad de México. Se cree que estos árboles fueron llevados a un vivero en Cuernavaca, Morelos, con la planta hemiparásita (Cházaro *et al.*, 2005).

Clasificación taxonómica: reino: *Plantae*; división: *Magnoliophyta*; clase: *Magnoliopsida*; orden: *Santales*; familia: *Loranthaceae*; género: *Cladocolea*; especie: *Cladocolea Ioniceroides* (Kuijt, 1975). Comúnmente conocido como muérdago verdadero o injerto.

Es un muérdago neotropical se distribuye desde el cinturón volcánico transversal hasta el sur de México. Se reportan cerca de veinte especies principalmente en nuestro país; también en Centro y Sudamérica parasita hojas de base ancha y terminada en punta fina (latifoliadas) principalmente, aunque también se encuentra en las coníferas, siendo los sauces (género *Salix*) uno de los más severamente afectados. Se encontró que el CL se distribuye en al menos once estados de la República mexicana, incluyendo la zona chinampera del Distrito Federal (Alvarado y Saavedra, 2005; Serrano, 2010).

Se ha observado que a medida en que se desarrolla el fruto, se depositan taninos en cada una de las capas que se van formando. En los tejidos que rodean al endospermo se han identificado lípidos, taninos y carbohidratos de tipo mucilaginoso (Alvarado y Saavedra, 2005). Se ha identificado la presencia de polifenoles en extractos acuosos metanólicos de hoja, tallo y fruto, de los cuales una pequeña parte son *flavonoides* (Serrano, 2010).

### Descripción macroscópica

Es parásita, órganos aéreos de plantas leñosas, se establece sobre especies potencialmente maderables. Arbustos, por lo general, dioicos, usualmente glabros, parásitos de plantas leñosas; tallos cilíndricos o aplanados, erguidos o volubles; hojas laminares, opuestas o alternas, con frecuencia coriáceas; comúnmente

flores dispuestas en racimos, corimbos o en cabezuelas axilares; flores con un pequeño cálculo entero o algo dentado en el extremo superior, si son unisexuales, por lo general presentan el otro sexo atrofiado; piezas del perianto seis, verdosas o amarillentas, libres, con frecuencia lineares; estambres ubicados en diferentes alturas del perianto; ovario algo globoso, estilo manifiesto, a veces sigmoideo, estigma capitado, ambos caducos; fruto carnososo. Pueden presentar raíces epicorticales sobre el tallo, en la base de la planta o estar ausentes.

El género *Cladocolea* se distingue de *Dendropemon*, *Oryctanthus*, *Phthirusay* *Struthanthus* por las flores terminales (inflorescencia determinada) y por la falta de bractéolas (Kuijt, 1975).

Se encontraron diferencias en la agrupación, abundancia y tamaño de los poros que conforman el xilema de los muérdagos, características determinantes para la identificación de las tres especies de muérdagos *Cladocolea loniceroides*, *Struthanthus interruptus* y *Phoradendron velutinum*.

En cuanto a su biología, con base en inoculaciones artificiales, se sabe que las yemas florales pueden aparecer en tan sólo 280 días. Véase figura 6.

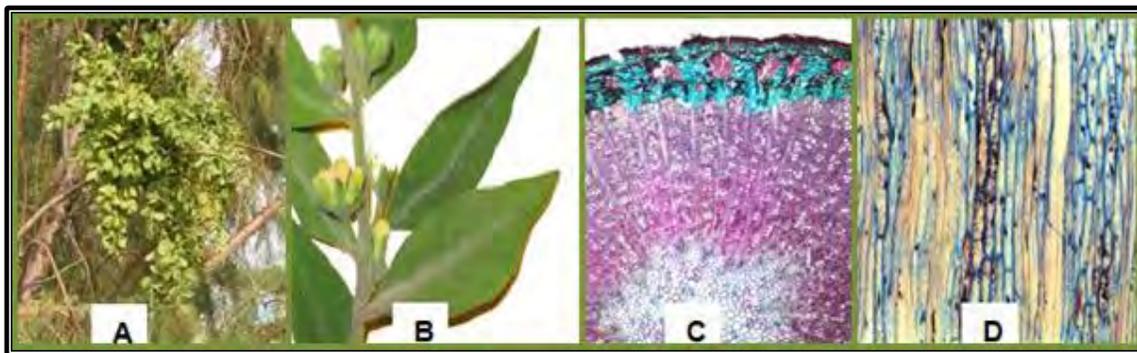


FIGURA 6. Muérdago *Cladocolea loniceroides*. A, ejemplar; B, tallo con hojas e inflorescencias; C, corte histológico transversal, y D, corte histológico longitudinal.

## Hospedantes

Casi todas las especies de la familia *Loranthaceae* son parásitas de árboles tropicales. En México, se le ha encontrado en mangle y en vegetación de duna costera. Principalmente, la especie CL infesta a los siguientes hospederos: *Prunus serotina*, *Quercus*, *Rumfordia*, *Salix bonplandiana*, *Solanun refractum*, *Vernonia*, *Compositae*, *Malvaceae*, *Quercus Macrophylla*, *Bursera tometosa* y *Bursera*, (Kuijt, 1975); *Salix babylonica* (Saavedra-Romero *et al.*, 2002), y *Pinus leiphylla* (Geils *et al.*, 2002).

## Usos

### *Farmacología*

Tomar altas dosis de muérdago puede tener una acción nociva sobre el funcionamiento del corazón. Incluso el consumo de sus bayas puede llegar a ser peligroso, tanto para los niños y como para las mascotas, especialmente gatos. Las personas que toman preparaciones terapéuticas con muérdago pueden experimentar efectos secundarios adversos como la deshidratación, fiebre de leve a grave, diarrea, convulsiones, delirio e incluso alucinaciones. Esta hierba o sus preparaciones no deben utilizarse durante el embarazo o lactancia.

Aunque se ha reportado un débil efecto citotóxico, en artemia salina del extracto metanólico del tallo de CL, se atribuye este efecto al contenido de flavonoides (Morales, *et al.*, 2010). Se ha observado un efecto antimicrobiano que asociaron al contenido de metabolitos secundarios de polaridad alta (Durán *et al.*, 2010).

### *Etnobotánica*

Al analizar los extractos del tallo, hojas y frutos de CL se determinó alta capacidad para combatir el estrés oxidativo, una de las principales causas que se asocia con

enfermedades crónico-degenerativas, como cáncer, Alzheimer, hipertensión y diabetes, además, regula la presión arterial y el ritmo cardiaco (Huang, 2005).

### *Consumo popular*

Las partes utilizadas son ramas y bayas. En la herbolaria, se utilizan la planta entera, desecada y triturada, como hipotensora, vasodilatadora, diurética, cardiotónica y antiespasmódica (Marchal, 2009). Se puede consumir en varias formas: infusión fría o caliente, polvo, tintura, hierba seca y extracto fluido aunque el muérdago se utiliza a veces para tratar el cáncer, las dosis de la hierba que se mencionan a continuación son para afecciones no cancerosas-. Véase tabla 2.

TABLA 2. Preparaciones de muérdago para consumo humano.

<p><i>Infusión fría</i></p> 	<p>Agregar 2.5g de hojas frescas en agua fría. Dejar en remojo a temperatura ambiente de diez a doce horas. Las hojas frescas son preferidas a las hojas secas: se consideran más activas.</p>
<p><i>Infusión caliente</i></p> 	<p>Tres gramos de polvo de hojas secas de muérdago se añaden a 250 ml de agua hervida. Se deja, apartado del fuego, durante al menos diez minutos.</p>
<p><i>Polvo</i></p> 	<p>Se toma un 1g al día, el contenido se presenta en cápsulas.</p>
<p><i>Tintura</i></p> 	<p>Utilizar hojas y alcohol, en proporción de 1:4. La dosis estándar de la tintura se toma de 10 a 60 gotas tres veces al día o 0.5 ml dos veces al día.</p>

#### **IV. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**

La OMS ha determinado que las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en todo el mundo. Se estima que 7.3 millones de esas muertes son debidas a la cardiopatía coronaria y 6.2 millones a accidentes vasculares cerebrales; afectan por igual a ambos sexos, más del 80% se reportan en países en vías de desarrollo. Se calcula que en 2030 morirán cerca de 23.3 millones de personas por éstas; se prevé que serán la principal causa de muerte en la humanidad (World Health Organization *et al.*, 2011).

En nuestro país, la prevención de enfermedades no forma parte importante de la cultura de la población. Por lo que es común que el mexicano desde la infancia coma en exceso, y, además por consumir grandes cantidades de carne, de grasas, de harinas y de bebidas azucaradas, aunado al sedentarismo, y la pobre ingesta de vegetales, frutas, verduras y del tabaquismo conducen, a la mayoría de la población, a sufrir sobrepeso, hipertensión e hiperlipidemia que son factores críticos de riesgo para padecer ECV.

Por ello, en los últimos años se ha llevado a cabo una investigación intensa para entender mejor cómo se desarrollan las ECV; también, se han orientado esfuerzos hacia la prevención y la obtención de tratamientos más eficaces. Cabe mencionar que parte importante de estas investigaciones va dirigida hacia el estudio de los flavonoides y sus actividades antioxidantes; estos estudios pueden revelar en qué productos naturales están presentes y cuáles de ellos contienen cantidad considerable de antioxidantes, para, a la postre, permitir encontrar fuentes para su aislamiento; hecho que resulta de interés en la investigación y en la industria farmacéutica.

Los muérdagos son considerados parásitos de las poblaciones de árboles: causan deterioro y eventual muerte; su beneficio: alimento de algunas aves y algunos mamíferos. Sin embargo, en la medicina tradicional, los muérdagos han sido utilizados, principalmente, para tratar ECV y cáncer; como antiséptico y para el

tratamiento de la alopecia, entre otros (Rodríguez, *et al.*, 2003). La literatura especializada reporta la existencia de varios compuestos de interés investigativo reportados en los muérdagos de la familia *Loranthaceae* como son: flavonoides, alcaloides, lectinas y viscotoxinas, histamina y polisacáridos (Winterfeld y Dorle, 1942; Yataro, 1941; Sajner y Veris, 1958; Graziano *et al.*, 1967; Jordan y Wagner, 1986; Fukunaga *et al.*, 1986; Sinha *et al.*, 1999; Park *et al.*, 1999).

Por estos motivos, el estudio del muérdago se considera de importancia; puede ser una valiosa fuente de obtención de compuestos de uso terapéutico o industrial por su gran abundancia.

Considerando lo anterior, el presente estudio tiene como objetivos principales evaluar la actividad vasorrelajante y antioxidante del extracto metanólico de la especie muérdago *Cladocolea loniceroides*

### **Objetivos Particulares.**

- ❖ Preparar el extracto metanólico a partir de la muestra recolectada en Cd. Universitaria de un árbol de trueno.
- ❖ Realizar el fraccionamiento y aislar el metabolito mayoritario del extracto metanólico de la especie de muérdago *Cladocolea loniceroides*.
- ❖ Determinar el efecto farmacológico del extracto metanólico (*C. loniceroides*), sobre el tono del músculo liso vascular de la aorta aislada de rata, intacta y sin endotelio.
- ❖ Evaluar la capacidad antioxidante in vitro del extracto metanólico; utilizando el ensayo de atrapamiento del radical DPPH<sup>·</sup>, la capacidad atrapadora del radical ABTS<sup>·+</sup>.

## V. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### FUNDAMENTO TEÓRICO

#### Ensayos para compuestos antioxidantes

Los métodos para determinar la capacidad antioxidante se pueden dividir en: a) fundamentados en la reacción de transferencia de átomo de hidrógeno (HAT), y b) aquéllos en reacciones de transferencia de un sólo electrón (ET), involucran una *Reacción redox* con el oxidante como un indicador del final de la reacción. Por otro lado, en los apoyados por actividad antioxidante de muérdago hay catorce métodos HAT, generalmente usan un compuesto generador de radicales libres, un indicador molecular oxidable y un antioxidante (Huang y Prior, 2005).

#### Capacidad antioxidante de $ABTS^{\bullet+}$

La generación del radical 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6 sulfonato de amonio, conocido como  $ABTS^{\bullet+}$ , constituye la base de uno de los métodos espectrométricos que han sido aplicados para medir la actividad antioxidante total de soluciones o sustancias puras y mezclas acuosas. El ensayo original de  $ABTS^{\bullet+}$  estaba basado en la activación de la metilmioglobina con peróxido de hidrógeno en presencia de ABTS para producir un radical catión, en presencia o ausencia de antioxidantes.

La técnica mejorada para la generación del radical catión  $ABTS^{\bullet+}$  implica la producción directa del cromóforo  $ABTS^{\bullet+}$  verde-azul a través de la reacción entre

ABTS y el persulfato de potasio ( $K_2S_2O_8$ ) que presenta tres máximos de absorción a las longitudes de onda de 645 nm, 734 nm y 815 nm. La adición de los antioxidantes al radical pre formado lo reduce a ABTS. De esta manera, el grado de decoloración, como porcentaje de inhibición del radical catión  $ABTS^{\bullet+}$ , está determinado en función de la concentración y el tiempo, así como, del valor correspondiente usando Trolox<sup>®</sup>, antioxidante comercial, como estándar, bajo las mismas condiciones (Zuleta *et al.*, 2009). Véase figura 7.

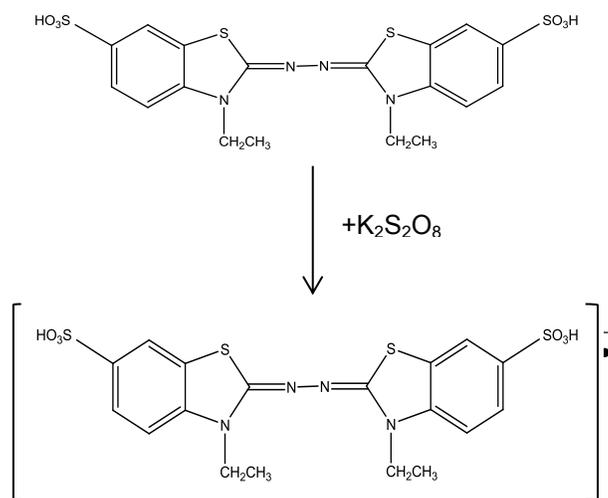


FIGURA 7. Formación del radical  $ABTS^{\bullet+}$

#### Capacidad de atrapamiento $DPPH^{\bullet}$

El radical *2,2-difenil-1-picrilhidrazil*, conocido como  $DPPH^{\bullet}$ , en su forma radical tiene color púrpura con una absorción máxima a 517nm en espectrofotómetro de UV-Vis. En su forma reducida después de la acción de los antioxidantes sobre el radical, el  $DPPH^{\bullet}$  se torna a color amarillo. La reacción de reducción del radical  $DPPH^{\bullet}$  se observa en la figura 8.

El cambio de coloración de este compuesto se monitorea para determinar la concentración de antioxidantes en la muestra de estudio (Brad-Williams *et al.*, 1995; Alam *et al.*, 2012).

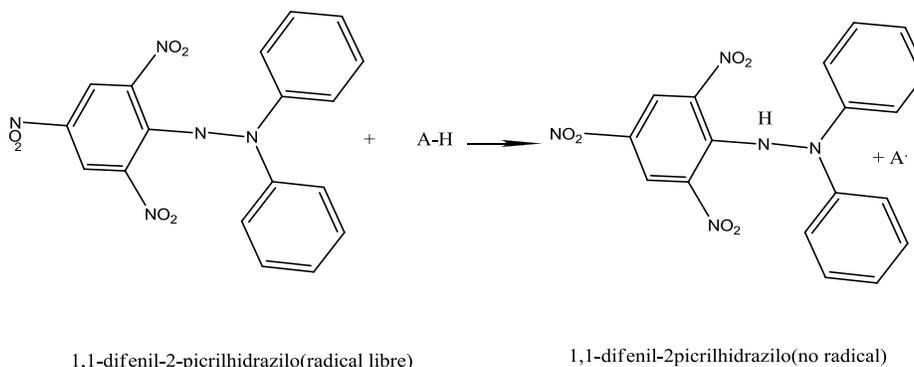


FIGURA 8. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con antioxidante.

### Procedimientos generales

Dos colectas diferentes de muérdago provenientes de árboles de trueno (*Ligustrum lcidum*) y álamo blanco (*Populus alba*) fueron obtenidas frente al Conjunto de Investigación, edificio E, Facultad de Química, Ciudad Universitaria, delegación Coyoacán. El material vegetal recolectado fué identificado como *Cladocolea lonocerooides* (Cl) por el maestro en ciencias Bonifacio Don Juan Macías, del Jardín Botánico *Faustino Miranda* del Instituto de Biología de nuestra *Máxima Casa de Estudios* (una muestra de referencia se encuentra conservada en el laboratorio 111, edificio de Farmacia, de dicha facultad).

Después, cada muestra se sometió a un proceso de desecación durante una semana, transcurrido este tiempo se procedió a separar el muérdago en hojas, tallos y frutos. Una porción de 756 g de hojas obtenidas del árbol de trueno secas se colocaron en 1000 mL de metanol macerándose durante 48 horas. Acto seguido, se separó la materia vegetal del disolvente. Éste se concentró en un rotavapor, se obtuvo un extracto color café oscuro con consistencia semisólida. Que fué suspensiva en una mezcla de MeOH/H<sub>2</sub>O 20:80 y extraída por partición con hexano y posteriormente con AcOEt. La fracción orgánica se llevó a sequedad y fue fraccionada con una columna de vidrio con soporte de Sephadex LH-20. La muestra se disolvió en la mínima cantidad de metanol y se eluyó con metanol.



FIGURA 9. MACERADO METANÓLICO DEL MUÉRDAGO *C. LONICEROIDES* DEL ÁRBOL DE TRUENO

Adicional a éste macerado se maceraron 100 g de hojas secas obtenidas de la colecta de muérdago del árbol de álamo blanco (*Populus alba*) para realizar un segundo macerado, esta cantidad de hojas se colocaron en 1000 mL de Metanol, realizando el mismo procedimiento que para el muérdago obtenido del árbol de trueno (*Ligustrum vulgare*) hasta la obtención del extracto métanólico del muérdago *C. loniceroides*.

#### Fraccionamiento primario

El extracto metanólico obtenido de la colecta del muérdago del trueno se colocó en una columna de Sephadex LH-20 (35x5 cm) y se eluyó con Metanol. Las fracciones obtenidas se concentraron y se les asignaron diferentes nomenclaturas para su identificación, en seguida, se realizó un análisis por cromatografía de sílica, fase fija, y una mezcla de acetato de etilo-metanol (7:3) + 3 gotas de ácido acético glacial, fase móvil; reveladas con vainillina sulfúrica como revelador químico, y luz UV como revelador físico. Se juntaron las muestras de acuerdo a su factor de retención similar y se obtuvieron las siguientes fracciones combinadas señaladas en la Tabla 3.

TABLA 3. Fraccionamiento primario del extracto metanólico del muérdago *C. Ioniceroide*s por cromatografía en columna.

Fracción	Disolvente (100%)	Fracción final
1-4	MEOH	PF:I'
5-10		PF:II'
11-14		PF:III'
15-18		PF:IV'
19-22		PF:V'
23-44		PF:VI'

### Fraccionamiento secundario

La fracción I' se colocó en una columna de Sephadex LH-20 (35x5 cm) y se utilizó MetOH como fase móvil. Las fracciones obtenidas se concentraron y se les asignaron diferentes nomenclaturas para su identificación, después se procedió a realizar una cromatoplaqueta de sílica, fase fija, y una mezcla de acetato de etilo-metanol (7:3) + 3 gotas de ácido acético glacial, fase móvil; reveladas con vainillina sulfúrica, revelador químico, y luz UV revelador físico. Se juntaron las muestras de acuerdo a su factor de retención similar y se obtuvieron las siguientes fracciones combinadas mencionadas en la Tabla 4.

TABLA 4. Fraccionamiento secundario del extracto metanólico del muérdago *C. Ioniceroide*s por cromatografía en columna.

Fracción	Disolvente (100%)	Fracción final
1-4	MEOH	SF:I''
5-8		SF:II''
9-14		SF:III''
11-12		
13-14		
15-22		SF:IV''
23-28		SF:V''
29-32		SF:VI''
32-36		SF:VII''
37-40	SF:VIII''	

A la fracción SF:II'' obtenida del segundo fraccionamiento, se le realizó una cromatografía simple en una cromatoplaaca de sílica el revelador físico fue luz UV y el revelador químico un eluyente de acetato de etilo:metanol (7:3) + 3 gotas de ácido acetico, colocando en un extremo la fracción obtenida del fraccionamiento y en otro extremo la referencia de la (-)-epicatequina(Fig. 10). Al observar la cromatoplaaca y ver que aún no estaba completamente pura y que tenía algunas impurezas, se le realizó una placa preparativa. La cromatografía en placa preparativa se llevó a cabo en placas de gel de sílice de 1-2 mm de espesor sobre un soporte de vidrio. Se utiliza para la separación y aislamiento de los componentes de una mezcla en cantidades comprendidas entre 100-200 mg. En la superficie del adsorbente, mediante una pipeta Pasteur, se traza una línea continua con la muestra disuelta y se introduce la placa en posición vertical en una cubeta. Durante la elución debe permanecer tapada para evitar la evaporación del disolvente. Una vez que se han separado los productos que componen la muestra, se marca con una cuchilla el contorno del compuesto a aislar y con ayuda de una espátula se desprende del soporte de vidrio el gel de sílice con el compuesto adsorbido. Una vez transferido a un Erlenmeyer se añade un disolvente en el cual sea soluble el producto, en este caso utilicé metanol, se filtra el gel de sílice y una vez eliminado el disolvente tenemos el producto puro. El compuesto obtenido de ésta placa preparativa se envió a RMN (ver diagrama 2).

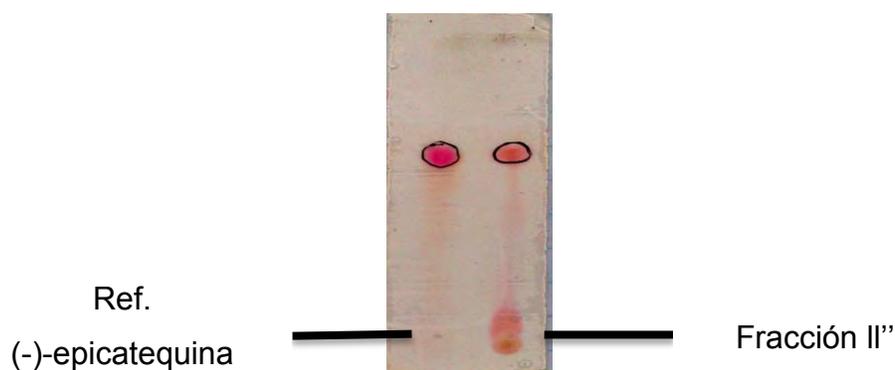


FIGURA10. CROMATOPLACA DE LA FRACCIÓN II'' Y LA REF. DE (-)-EPICATEQUINA

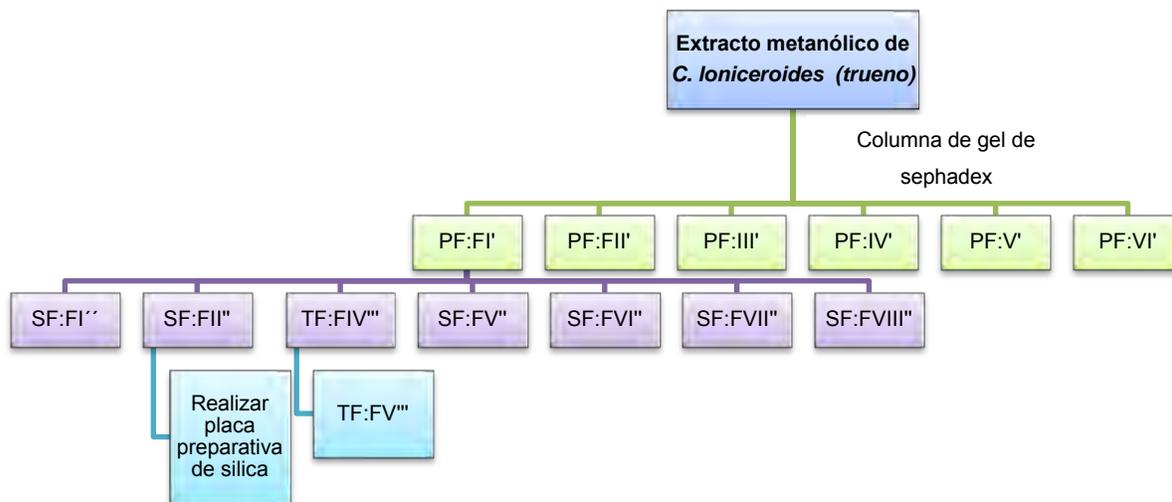


DIAGRAMA 1. Resumen del fraccionamiento del extracto metanólico del muérdago *C. loniceroides*, obtenido del árbol de trueno.

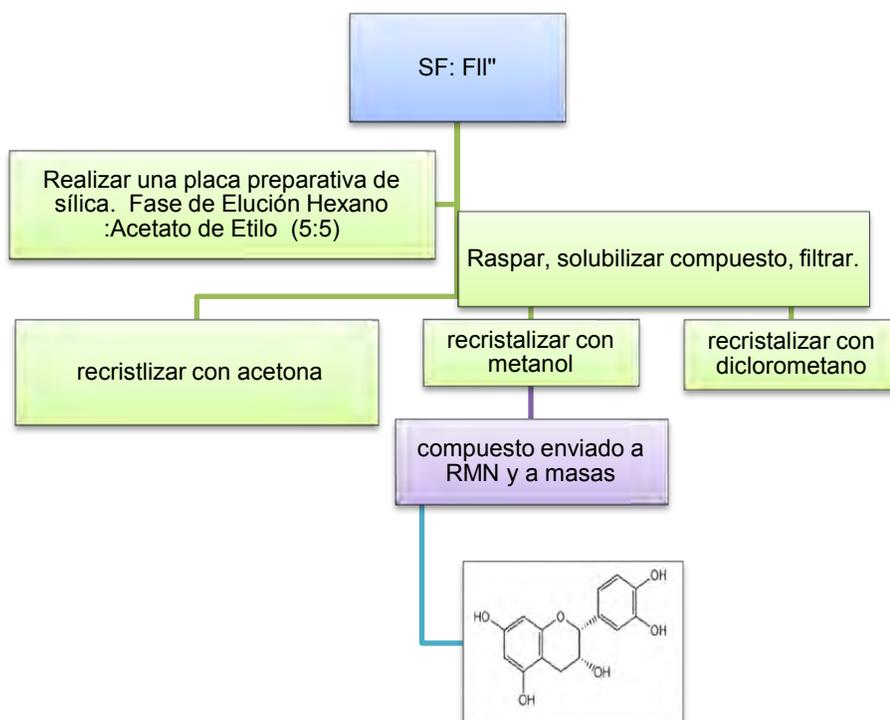


DIAGRAMA 2. Procedimiento de la obtención de la (-)-epicatequina.

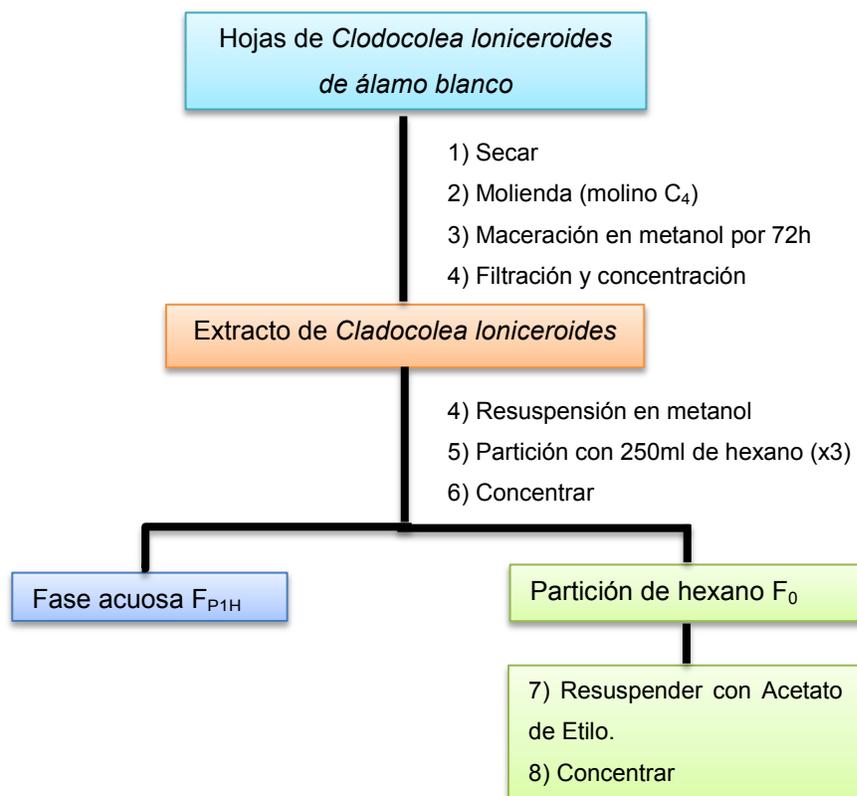


DIAGRAMA 3. Procedimiento de la obtención del extracto metanólico del muérdago *C. loniceroides* obtenido del árbol de álamo blanco.

## Ensayo biológico

### Evaluación de la actividad vasorrelajante. *Ensayo de aorta aislada de rata*

Se emplearon ratas de la cepa Wistar que fueron anestesiadas con cloroformo y sacrificadas por decapitación. Se removió la aorta torácica y se colocó en una solución fría de Krebs-Heinseleit.<sup>6</sup> Se eliminó el tejido adiposo y conectivo de la aorta y se cortaron anillos de 4-5 mm (Feelisch *et al.*, 1999). Los anillos de aorta se montaron en cámaras de incubación de 7 mL conteniendo solución de Krebs-Heinseleit a 37°C. Se burbujearon constantemente con una mezcla de oxígeno-dióxido de carbono, relación 95:5. Las contracciones mecánicas se registraron isométricamente por medio de transductores de fuerza Grass modelo FTO3 acoplados a un polígrafo Grass de 6 canales modelo 7-8P.

El tejido se sometió a una tensión de reposo (basal) de 1.5g y se dejó equilibrar. Una vez que el tejido alcanzó el equilibrio, los segmentos se precontrajeron con una solución de KCl a 100mM que se aplicó tres veces, a intervalos de cuatro minutos, lavando las cámaras entre cada aplicación. Después de la última aplicación, se dejó reposar a la aorta hasta alcanzar su tensión basal nuevamente de 1.5 g para determinar el nivel en el que actúan el extracto metanólico de las hojas del muérdago *C. loniceroides*. Para modificar el tono del músculo liso vascular, se realizaron experimentos en los que, una vez estabilizado el tejido, los segmentos de aorta se contrajeron con fenilefrina (PHE) a 1µM.

El extracto metanólico de las hojas del muérdago *C. loniceroides*, se evaluó en un rango de concentraciones de 1µg/mL a 1,000µg/mL. Las diferentes concentraciones se disolvieron en agua tridestilada y se adicionaron a las cámaras de tejido aislado, veinte minutos después de haber inducido la contracción de la aorta con la PHE. La respuesta inducida por cada una de las concentraciones del extracto en la aorta se registró durante diez minutos y los cambios en la tensión producida por el extracto de prueba se detectaron, mediante transductores de

---

<sup>6</sup> Características: pH 7.4, 126.8mM NaCl, 5.9 mM KCl, 2.5mM CaCl<sub>2</sub>, 1.2mM MgCl<sub>2</sub>, 30mM NaHCO<sub>3</sub>, 1.2mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> y 5mM D-glucosa.

fuerza (FTO3 Grass), acoplados a un polígrafo Grass. La información obtenida fue procesada por el programa Poly View (Grass). Las respuestas se expresaron como el porcentaje de contracción alcanzada al adicionar la PHE (Feelisch *et al.*, 1999).

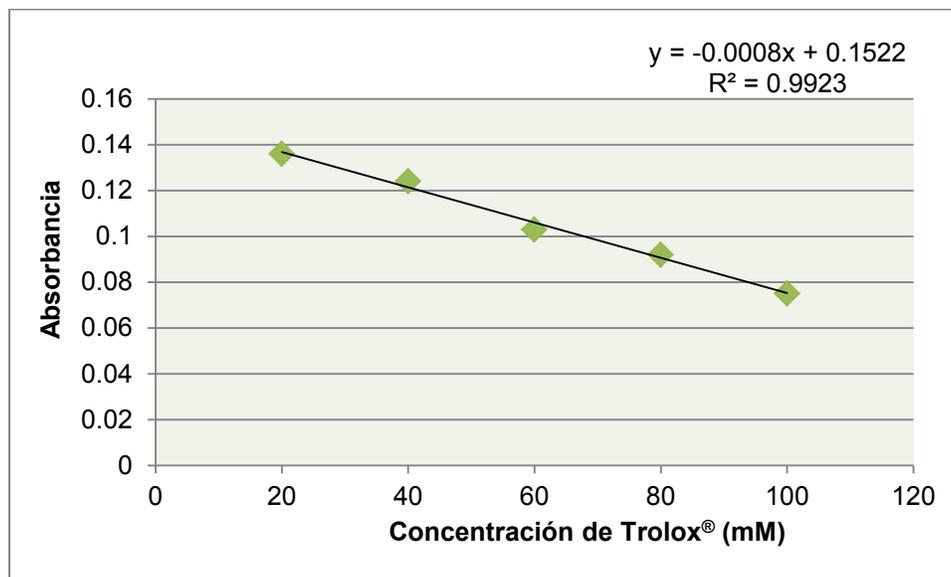
### **Determinación de la actividad antioxidante de los extractos metanólicos del muérdago *Cladocolea Ioniceroides***

#### **Actividad de atrapamiento del DPPH•**

Se utilizó la capacidad de atrapamiento del radical DPPH• para determinar la actividad antioxidante de las muestras, siguiendo la metodología descrita por Rojano y colaboradores (2008) con algunas modificaciones. La determinación se realizó en placas de 96 pozos, se colocaron 100 µL de solución de la muestra (1mg/mL) y se adicionaron 100 µL de solución metanólica de DPPH• 0.208mM; se incubó a temperatura ambiente durante veinte minutos y posteriormente se midió la absorbancia a 490nm en un lector de Elisa BIO•RAD Benchmark.

Cada muestra se realizó por triplicado y los resultados se presentan como el promedio de las determinaciones ± la desviación estándar correspondiente.

La Gráfica 2 presenta la *curva patrón de Trolox*<sup>®</sup>, se construyó en un intervalo de concentración de 0-100mM. Los resultados se expresan en TEAC.



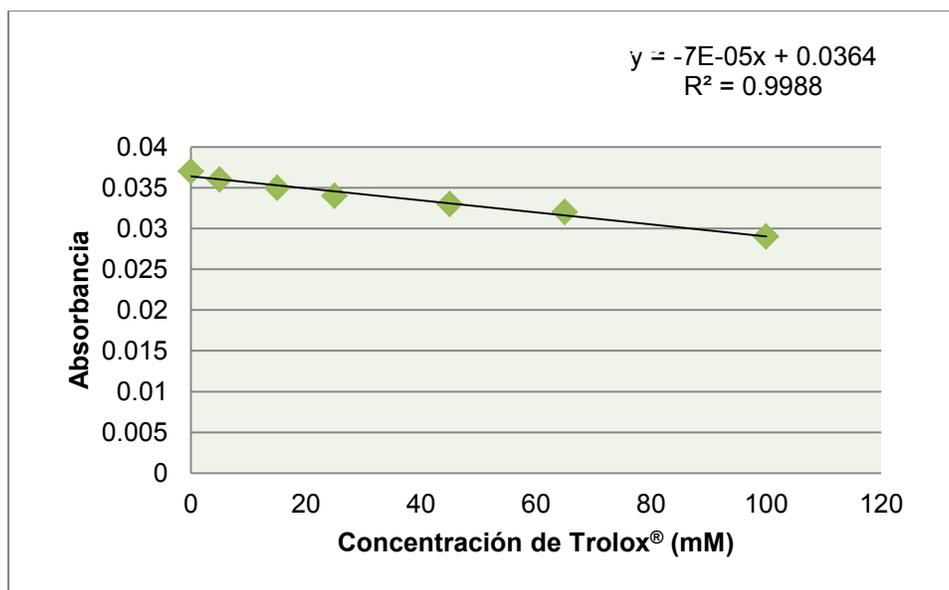
GRÁFICA 2. curva patrón de Trolox®.

### Determinación de la actividad de atrapamiento del radical ABTS<sup>•+</sup>

De acuerdo con el método descrito por Kriengsak (Kriengsak, *et al.*, 2006) con algunas modificaciones. El radical ABTS<sup>•+</sup> se formó por la reacción de oxidación de la solución 7mM de ABTS con una solución 2.45mM de persulfato de potasio. La solución resultante se conservó durante dieciséis horas en ausencia de luz antes de su utilización. De esta forma, la actividad antioxidante de las muestras se evaluó con la capacidad de atrapamiento del radical ABTS<sup>•+</sup> (la solución del radical ABTS<sup>•+</sup> se diluyó con MEOH hasta obtener una absorbancia inicial de al menos 0.70 a 700nm).

El ensayo se realizó en placas de 96 pozos, se adicionaron 20µl de solución de cada muestra (1mg/mL) y se colocaron 180µL de la solución del radical ABTS<sup>•+</sup> ajustados a la absorbancia de al menos 0.70nm. Se dejó incubar a temperatura ambiente durante seis minutos y, posteriormente, se midió la absorbancia a 700nm en un lector de Elisa BIO•RAD Benchmark. Cada muestra se realizó por triplicado y los resultados se presentan como el promedio de las determinaciones ± la desviación estándar.

La Gráfica 3 presenta la *curva patrón de Trolox® para ensayo de inhibición de radical ABTS<sup>•+</sup>*, se construyó en un intervalo de 0-65mM y los resultados se expresaron en TEAC.



GRÁFICA 3. curva patrón de Trolox® para ensayo de inhibición de radical ABTS<sup>•+</sup>

## VI. RESULTADOS y DISCUSIÓN

### Aislamiento de la (-)-epicatequina a partir de las hojas del muérdago

La selección del muérdago se realizó con base en los usos, descripciones y conocimientos de la medicina tradicional. En específico su uso para el tratamiento de diversas enfermedades cardiovasculares como la hipertensión, como antiséptico tópico y para la *diabetes mellitus* (Bah, *et al.*, 2011). Por esta razón, se decidió realizar un estudio fitoquímico del muérdago centrándose principalmente en la especie *C. loniceroides*, este estudio se enfocó en determinar la capacidad antioxidante de los extractos de las hojas del muérdago y en el aislamiento del compuesto antioxidante mayoritario.

El proceso de maceración con metanol de las hojas del muérdago *C. loniceroides* permitió obtener un extracto total con aspecto de semisólido. Para ello fue necesario separar el material vegetal del disolvente, el disolvente se concentró y así se obtuvo el extracto de muérdago *C. loniceroides*. Este extracto fue sometido a particiones sucesivas con hexano; el extracto resultante se resuspendió en acetato de etilo, al finalizar se concentró la muestra.

Posteriormente, este extracto resultante se disolvió en metanol y fue sometido a un fraccionamiento primario por métodos cromatográficos utilizando una Columna de Sephadex LH-20 (35x5cm) y metanol como disolvente. Este proceso permitió obtener ocho fracciones combinadas.

Finalmente, la fracción PF:I' fue sometida a un fraccionamiento secundario con cromatografía en columna de Sephadex LH-20 (35x5 cm) y metanol. Así, fue posible aislar, a partir de la fracción "FS:FII" y después de realizar una placa preparativa de sílica, el compuesto GAA-001 que se caracterizó por la comparación

de sus constantes espectroscópicas (se muestran en la tabla 5), como la (-)-epicatequina. Las constantes, para identificar la (-)-epicatequina, se compararon con las reportadas en la literatura para el compuesto (Davies *et al.*, 1996). En la Figura 11 ilustra el espectro de RMN de la (-)-epicatequina.

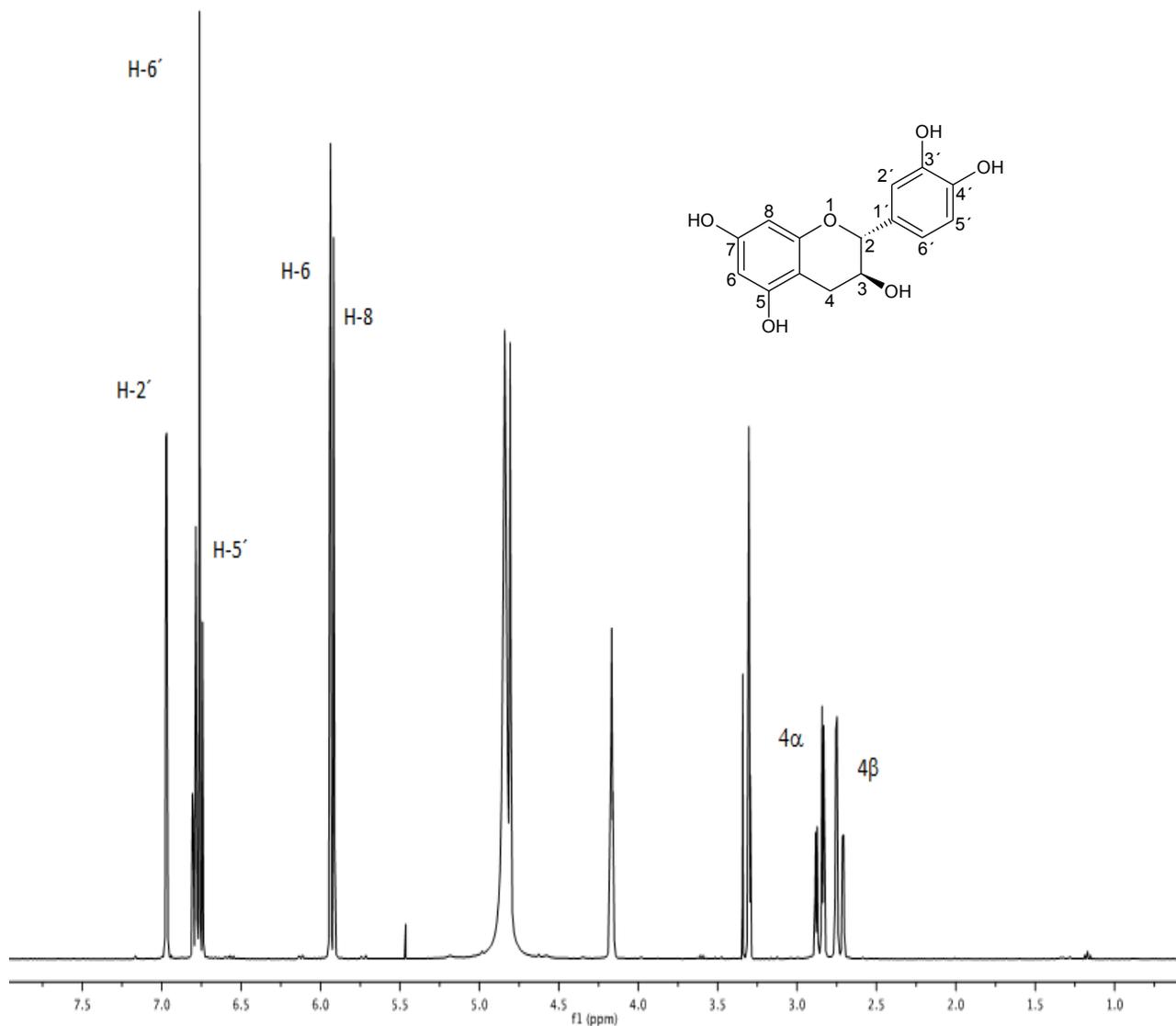


FIGURA 11. Espectro RMN de la (-)-epicatequina.

Tabla 5. Desplazamientos químicos de RMN <sup>1</sup>H de la (-)-epicatequina.

Posición	$\delta_H$
4a	2.86 dd ( $J= 16.75, 3$ )
4b	2.70 dd ( $J= 16.75, 2.5$ )
5	-
6	5.91 d ( $J= 2.1$ )
7	-
8	5.94 d ( $J= 2.1$ )
9	-
10	-
1'	-
2'	6.96 d ( $J= 1.7$ )
3'	-
4'	-
5'	6.78 d ( $J= 8.7$ )
6'	6.81 dd ( $J= 8.7, 1.7$ )

Por otra parte, con la finalidad de determinar si la (-)-epicatequina es un metabolito común a *Cladocolea loniceroides* sin importar su hospedero se decidió recolectarla a partir de un árbol de álamo blanco (*Populus alba*). El material vegetal seco se extrajo utilizando un proceso de maceración y como disolvente metanol. El extracto resultante se comparó con la referencia de (-)-epicatequina aislada y con el extracto metanólico de las hojas de muérdago de la especie *C. loniceroides*, recolectado a partir de un trueno. Como resultado se determinó que el muérdago recolectado a partir del álamo blanco no presentaba (-)-epicatequina. Estos resultados son congruentes con los descritos previamente (Rodríguez, 2011).

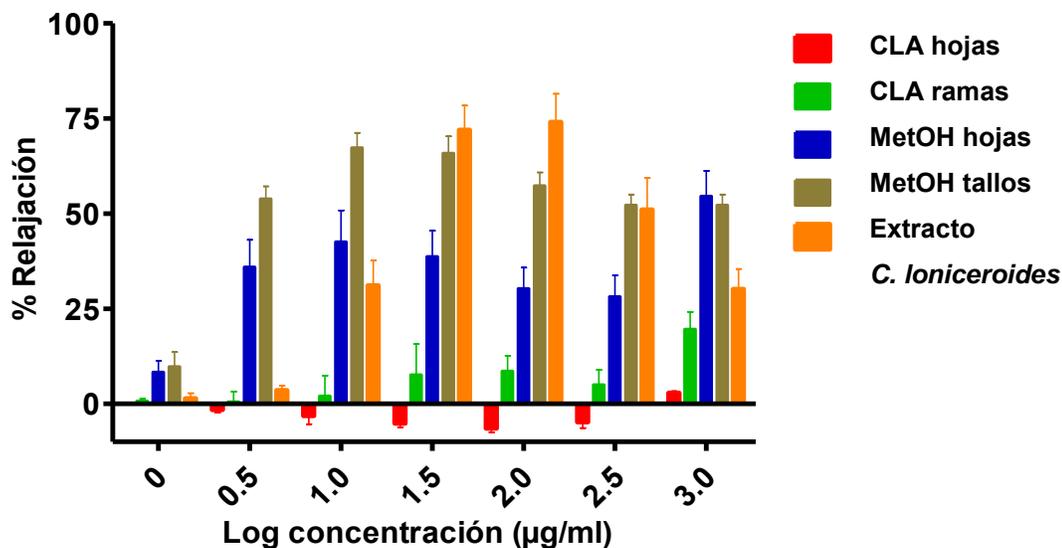
### Actividad vasorrelajante del extracto metanólico del muérdago *Cladocolea Ioniceroides*

La determinación de la acción vasorrelajante del extracto metanólico de muérdago *Cladocolea Ioniceroides*, se realizó utilizando el modelo de aorta aislada de rata. Este modelo es ampliamente utilizado para evaluar el efecto, *in vitro*, de extractos crudos o compuestos puros obtenidos de plantas sobre el tono del músculo liso vascular de segmentos de aorta de rata (Ibarra *et al.*, 2002). La relativa facilidad del bioensayo y el requerimiento de pequeñas cantidades de sustancia para inducir un efecto en la aorta, hacen que este modelo sea muy apropiado para la evaluación preliminar del efecto farmacológico de extractos de prueba.

Los resultados obtenidos indican que el extracto metanólico de muérdago *Cladocolea Ioniceroides* presenta un efecto vasorrelajante en el modelo de aorta aislada de rata obteniendo un  $E_{max}$  de  $74.0 \pm 7.4$  (%) y una  $CE_{50}$  de  $25.19 \mu\text{g/mL}$ . El porcentaje en el efecto máximo para este extracto es similar al del control ACh, sin embargo, la concentración efectiva media es considerablemente mayor para el extracto metanólico de muérdago de la especie *Cladocolea Ioniceroides*.

TABLA 6.  $E_{MAX}$  (%) Y  $CE_{50}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) DEL EXTRACTO METANÓLICO DE MUÉRDAGO *C. LONICEROIDES*

Muestra	$E_{max}$ (%)	$CE_{50} \mu\text{g/mL}$
Extracto metanólico de muérdago <i>Cladocolea Ioniceroides</i>	$74.0 \pm 7.4$	25.19
ACh	$67.6 \pm 3.2$	$8.6 \pm 1.4$



GRAFICA 4. ACTIVIDAD VASORRELAJANTE DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *CLADOCOLEA LONICEROIDES*.

En la Gráfica 4 se muestra que los extractos estudiados presentaron un comportamiento bifásico, en el cual a bajas concentraciones se observa un efecto vasodilatador que se pierde a concentraciones más altas. El extracto CLA de hojas presentó un ligero efecto vasoconstrictor que disminuye a concentraciones altas.

#### **Actividad antioxidante del extracto metanólico del muérdago *Cladocolea loniceroides***

Método de atrapamiento del radical libre DPPH<sup>•</sup>

Para este ensayo se elaboró una curva estándar de Trolox<sup>®</sup> (véase Gráfica 2), en donde la absorbancia de cada una de las muestras fueron interpoladas con el fin de obtener el TEAC (Milimoles equivalentes de Trolox<sup>®</sup> por gramo de extracto). Los resultados del ensayo para las muestras se encuentran en la Tabla 8. Este ensayo se realizó para el extracto metanólico del muérdago *C. loniceroides* a dos concentraciones diferentes (**1 mg/mL y 0.5 mg/mL**)

TABLA 7. Resultados del ensayo de neutralización del radical DPPH<sup>•</sup>.

Muestra	CONCENTRACIÓN	TEAC (mM)
Extracto metanólico de las hojas de muérdago <i>C. Ioniceroides</i>	(1 mg/mL)	81.048±0.305
Extracto metanólico de las hojas de muérdago <i>C. Ioniceroides</i>	(0.5 mg/mL)	76.098±0.297

Las muestras presentaron valores muy similares de TEAC. Al realizar este estudio y obtener el resultado descrito, el extracto metanólico del muérdago *C. Ioniceroides* sí tiene la capacidad de donar hidrógenos para neutralizar al radical.

#### Ensayo de decoloración del radical catiónico ABTS<sup>•+</sup>

TABLA 8. Resultados del ensayo de decoloración del radical catiónico ABTS<sup>•+</sup>.

Muestra	CONCENTRACIÓN	TEAC (mM)
Extracto metanólico de las hojas de muérdago <i>C. Ioniceroides</i>	(1 mg/mL)	589.528±3.094
Extracto metanólico de las hojas de muérdago <i>C. Ioniceroides</i>	(0.5 mg/mL)	375.128±2.452

Los valores arrojados de TEAC refieren que todas las muestras tienen la capacidad de inhibir al radical catiónico ABTS<sup>•+</sup>. De tal forma se puede sugerir que, de manera general, los compuestos presentes en el muérdago tienen un buen potencial de fungir como fuente de hidrógenos para estabilizar radicales.

## VII. CONCLUSIONES

El extracto metanólico de la especie de muérdago *Cladocolea loniceroides* presentó una actividad atrapadora de radicales libres en los ensayos de DPPH• y ABTS•<sup>+</sup> con TEACS (Milimoles equivalentes de Trolox® por gramo de extracto) de  $(81.048 \pm 0.305)$  y  $(589.528 \pm 3.099)$ , respectivamente.

El fraccionamiento realizado a partir del extracto metanólico del muérdago de la especie *Cladocolea loniceroides* recolectada de un árbol de trueno (*Ligustrum lcidum*) permitió aislar como metabolito mayoritario a la (-)-epicatequina.

Por otra parte, al comparar el extracto metanólico del muérdago *C. loniceroides*, obtenido del árbol de álamo blanco (*Populus alba*), se determinó la ausencia de epicatequina como componente de este extracto. Este hallazgo es congruente con los reportes previos en la literatura, sobre las posibles variaciones en el contenido de metabolitos secundarios en extractos preparados a partir muérdagos de la misma especie recolectados a partir de diferente hospedero (Vazquez *et al.*, 2006). La evaluación biológica del extracto metanólico de muérdago de la especie *C. loniceroides* presentó un  $E_{max}$  de  $74.0 \pm 7.4$  (%) y una  $CE_{50}$  de 25.19 µg/mL.

Es importante señalar la presencia del flavonoide (-)-epicatequina. Su actividad vasorrelajante explica de manera parcial, alguna de las propiedades que posee el muérdago.

Los resultados obtenidos son comparables con trabajos reportados en la literatura sobre los flavonoides (Harborne y Williams, 2000).

## VIII. PERSPECTIVAS

- Continuar el estudio de los extractos metanólicos de muérdago de la especie *C. Ioniceroides*, con la finalidad del aislamiento de compuestos diferentes a los encontrados en este trabajo.
- Realizar un perfil cromatográfico por HPLC de extractos metanólicos de muérdago de la especie *C. Ioniceroides* de diferentes colectas.
- Obtener mediante ensayos cinéticos la capacidad neutralizante relativa ante el radical usando áreas bajo la curva.
- Realizar estudios *in vivo* de la (-)-epicatequina y compuestos que puedan obtenerse posteriormente para evaluar si tienen actividad importante en modelos de estrés oxidante.

## IX. REFERENCIAS CONSULTADAS

### BIBLIOGRÁFICAS

1. Benigni, R.; Capra, C. y Cattorini, P. E. (1964). *Piante Medicinali, Chimica, Farmacologia e Terapia*, Vol. II, Italia: Inverni della Beffa, pp.1760-1782.
2. Braunwald E.; Colucci W. y Grossman W. (1999). Aspectos clínicos de la insuficiencia cardiaca: insuficiencia cardiaca de alto gasto; edema pulmonar. En Braunwald, ed., *Tratado de Cardiología* (479–506). España: Interamericana-McGraw-Hill.
3. Carroll, K. K.; Guthrie, N. y Chambers, A. S. (1998). Anticancer properties of flavonoids, with emphasis on citrus flavonoids. En: Rice-Evans CA, Packer L. Eds. *Flavonoids in Health and Disease*. New York. Marcel-Dekker: 437-446.
4. Consejo Nacional de Población (1999). *Envejecimiento Demográfico de México: Retos y Perspectivas. Por una Sociedad para todas las edades*. México: Consejo Nacional de Población.
5. Font Quer, P. (1962). *Plantas Medicinales: El Dioscórides Renovado*. España: Labor, pp.136-139.
6. Morales, J., Fernández, A., Bautista, M., Vargas, N. y Madrigal, E. (2009). Epidemiología de las enfermedades crónicas degenerativas. En Morales, J., ed., *Los antioxidantes y las enfermedades crónicas degenerativas*. México: Ciencia al Día, pp. 269-310.
7. Murray, Michael; Birdsall, Tim; Pizzorno, Joseph y Reilly, Paul (2004). *La Curación del Cáncer, Métodos Naturales*. España, pp. 353.

8. Nogué, S.; Simón J.; Blanché, C. y Piqueras, J. (2009). Intoxicaciones por plantas y setas. España: Badalona (Barcelona), Laboratorios Menarini, SA-Artes Gráficas Venus sL, pp. 10-11.
9. Paris, R.R. y Moyses, H. (1981). *Précis de Matière Médicale. Tome 2*. Francia: Masson, pp. 108-110.
10. Vazquez, C.; Villa, A.; Madrigal, S. (2006). Los muérdagos (Loranthaceae). México, División Forestal, Uruapan Michoacán, pp. 65-79.
11. Youngken, H.W. (1951). *Muérdago. Tratado de Farmacognosia*. México: Atlante, pp. 365-367.

#### CIBEROGRÁFICAS

1. Red Social de los Profesionales del Medio Natural (REDFORESTA) (2010, 28 de diciembre) *El muérdago, planta hemiparásita: ciclo biológico, daños y métodos de control*. (Unidad Sanidad Forestal, Zaragoza: Martín Bernal, Enrique). En: REDFORESTA. Disponible en: «<http://www.forestales.net/archivos/fichas/plagas/Muerdago.pdf>». [Consultado el 30 de noviembre de 2013].
2. De la Cruz, Olga. (2011, 2 de agosto). Plantas medicinales para enfermedades cardiovasculares [web log message]. Disponible en: «<http://olgadelacruzbotanica-odc.blogspot.mx/>». [Consultado el 30 de noviembre de 2013].
3. Asociación Mexicana de Arboricultura, AC (2009, marzo, número 2). *El Muérdago en la ciudad de México* (Marchal Valencia, Diana). En: ArbolAMA: pp. 10-30. Disponible en: «[http://www.arboricultura.org.mx/pdfs/ArbolAMA\\_2.pdf](http://www.arboricultura.org.mx/pdfs/ArbolAMA_2.pdf)». Consultado el 30 de noviembre de 2013].
4. Diccionario de la Lengua Española, disponible en: «<http://www.rae.es/rae.html>». Consultado el 30 de noviembre de 2013].

5. Antioxidantes, vitaminas y nutrientes. Disponible en:  
«[http://www.antioxidantes.com.ar/aox\\_18.pdf](http://www.antioxidantes.com.ar/aox_18.pdf)». [Consultado el 13 de febrero de 2014].
6. World Health Organization (2011). *Global status report on noncommunicable diseases 2010*. Disponible en:  
«[http://www.who.int/nmh/publications/ncd\\_report\\_full\\_en.pdf](http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report_full_en.pdf)».  
[Consultado el 30 de noviembre de 2013].
7. World Health Organization; World Heart Federation y World Stroke Organization (2011). *Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control*. Disponible en:  
«[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=21049&Itemid=](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=21049&Itemid=)».  
[Consultado el 30 de noviembre de 2013].
8. World Health Organization (2008). *The global burden of disease: 2004 update*. Disponible en:  
«[http://www.who.int/healthinfo/global\\_burden\\_disease/GBD\\_report\\_2004update\\_full.pdf?ua=1](http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GBD_report_2004update_full.pdf?ua=1)».  
[Consultado el 30 de noviembre de 2013].

## Hemerográficas

1. Adriambeloston E., Magnier C., Haan-Archipoff G., Lobstein A., Anton R. (1998). Natural dietary polyphenolic compounds cause endothelium-dependent vasorelaxation in rat thoracic aorta. *J. Nutr.*, 128: 2324-2333.
2. Akinmoladun A.; Ibukun E. y Farombi, E. (2007). Chemical constituents and antioxidant activity of *Alstonia boonei*. *African Journal of Biotechnology*, 6: 1197-1201.

3. Alam Md. N., Bristi N. J., Rafiquzzaman Md. (2012). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21: 143-152.
4. Alvarado D. y Saavedra, L. (2005). El género *Cladocolea* (*Loranthaceae*) en México: Muérdago verdadero o injerto. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 11: 5-9.
5. Álvarez C.A., Orallo C.F. (2003). Actividad de los flavonoides (I). Acción frente al cáncer. *Bioquímica*, 22(10): 130–140.
6. Baba S., Osakabe N., Yasuda A., Natsume M., Takizawa T., Nakamura T. y Terao J. (2000). Bioavailability (-)-epicatechin upon intake of chocolate and cocoa in human volunteers. *Free Radic. Res.* 33(5): 635-641.
7. Bah M. et al., (2011). Chemical Constituents of the Mexican Mistletoe (*Psittacanthus calyculatus*). *Molecules*, 16: 9397-9403.
8. Brand-Williams W., Cuvelier E. y Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie*. 28: 25-30.
9. Calderone Vincenzo, Chericoni Silvio, Martinelli Cinzia, Testai Lara, Nardi Antonio, Morelli Ivano, Breschi Maria Cristina y Martinotti Enrica. (2004). Vasorelaxing effects of flavonoids: investigation on the possible involvement of potassium channels. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol*, 370: 290-298.
10. Castroviejo S., Acedo C., Benedí M., Laínz F., Muñoz G., Nieto G. y Paiva J. (1997). Flora ibérica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e islas Baleares. *Real Jardín Botánico*, CSIC, volumen VIII (*Haloragaceae-Euphorbiaceae*).
11. Cházaro Basaños M. de J., Rivera Olivia H., Farías Ramón y Vázquez García J. A. (2005). *Cladocolea oligantha* (*Loranthaceae*) un nuevo registro para Veracruz, México y datos generales sobre este taxón. *Polibotánica*, (20): 1-15.

12. Coder K. M. (2006). Muérdago Americano. Besando bajo un parásito. Asociación Mexicana de Arboricultura México, AC. *ArbóreA*, 8 (18-19): 6-15.
13. Deanfield J, Donald A, Ferri C, Giannattasio C, Halcox J, Halligan S, Lerman A, Mancina G, Oliver JJ, Pessina AC, Rizzoni D, Rossi GP, Salvetti A, Schiffrin EL, Taddei S, Webb DJ (January 2005). Endothelial function and dysfunction. Part I: Methodological issues for assessment in the different vascular beds: a statement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens*, 23 (1): 7–17.
14. Duarte J, Pérez-Vinzcaíno F, Jiménez J, Tamargo J, Zarzuelo A: (2001). Flavonoids and cardiovascular diseases. *Atta-Ur-Rahman. Ed. Studies in Natural Products Chemistry*, volumen 25, parte F: 65-605.
15. Duarte J, Perez-Vizcaino F, Utrilla P, Jimenez J, Tamargo J, Zarzuelo A. (1993b). Vasodilatory effects of flavonoids in rat aortic smooth muscle. Structure-activity relationships. *Gen Pharmacol*, 24: 857-862.
16. Duarte J, Perez-Vizcaino F, Zarzuelo A Jimenez J, Tamargo J. (1993a). Vasodilatory effects of quercetin in isolated rat vascular smooth muscle. *Eur J Pharmacol*, 239: 1-7.
17. Feelisch M., Kotsonis P., Siebe J., Clement B. y Schmidt H. H. (1999). The soluble guanylyl cyclase inhibitor 1H-[1, 2, 4]oxadiazolo[4,3,-a] quinoxalin-1-one is a nonselective heme protein inhibitor of nitric oxide synthase and other cytochrome P-450 enzymes involved in nitric oxide donor bioactivation. *Molecular Pharmacology*, volume 56: 243-253.
18. Ferriola PC, Cody V, Middleton E. (1989). Protein kinase C inhibition by plant flavonoids. Kinetic mechanisms and structure-activity relationships. *Biochem Pharmacol*, 38:1617-24.
19. Fukunaga, T. et al., 1989. Studies on the constituents of Japanese mistletoes from different host trees, and their antimicrobial and hypotensive

- properties. *Chemical Pharmacology Bulletin (Tokio)*, Issue 37, pp. 1543-1546.
20. Geils, B., Cibrián, T., Moody, B., (Tech. Coords). (2002). Mistletoes of North American Conifers. *Gen. Tech. Rep.* RMRS GTR-98. Ogden, UT:U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station. p 123.
21. Graziano, M., Widmer, G. & Coussio, J., 1967. Flavonoids from the Argentine mistletoe, *Psittacanthus cuneifolius*. *Phytochemistry*, Issue 6, pp. 1709-1711
22. Harborne, J. B. y Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, vol. 55: 481-504.
23. Hirano, T., Gatah, M. y Oka, K. (1995). Natural flavonoids and lignin are potent cytostatic agents against human leukemia HL-60 cells. *Life Sci*, vol. 55: 1061-1069
24. Huang, D., Ou, B. y Prior, R. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 1841-1856.
25. Ibarra M, Perez-Vizcaino F, Cogolludo A, Duarte J, Zaragoza-Arnaez F, Lopez-Lopez J.G, Tamargo J. (2002). Cardiovascular effects of isorhamnetin and quercetin in isolated rat and porcine vascular smooth muscle and isolated rat atria. *Planta Med.*, 68: 307-310.
26. Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. The fifth report of the Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNCV). (1993). *Arch Intern Med*, 153: 154-183.
27. Jordan, E. & Wagner, H., 1986. Structures and properties of polysaccharides from *Viscum album* (L.). *Oncology*, Issue 42, pp. 8-15.

28. Khalil M. L. Biological activity of bee propolis in health and disease. (2006). *Asian Pac J Cancer Prev.*, Jan-Mar. 7(1): 22-31.
29. Khwaja, T. (1996). Pharmaceutical preparations derived from European mistletoe. *US Patent* 5: 547–674.
30. Kriengsak T., Unaroj B., Crosby K. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 669–675.
31. Kuijt, J. (1975). The genus *Cladoclea* (Loranthaceae). *Journal of the Arnold Arboretum*, 56(3): 265-335.
32. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H *et al.* (2012). A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 380(9859):2224–2260.
33. Mathers C.D., Loncar D. (2006). Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med*, 3(11)e: 442.
34. McKee, P., Castell, W., McNamara, P. and KANNEL, W. (1971). The natural history of congestive heart failure, the Framingham Study. *N Engl J Med* 285: 1441.
35. Miliauskas, G.; Venskutonis, P. y Van Beek, T. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85: 231–237.
36. Natsume M., Osakabe N., Yasuda A., Baba S., Tokunaga T., Kondo K., Osawa T., Terao J. (2004). In vitro antioxidative activity of (-)-epicatechin glucuronide metabolites present in human and rat plasma. *Free Radic Res* 38(12): 1341-1348.

37. Packer, M. (1988). Survival in patients with chronic heart failure and its potential modification by drug therapy. In Cohn, J. N. (ed.): Drug Treatment of Heart Failure, 2nd ed. Secaucus, N. J., ATC International: p. 273.
38. Park, J., Hyun, C. & Shin, H., 1999. Cytotoxic effects of the components in heart-treated mistletoe (*Viscum album*). *Cancer Letters*, Issue 139, pp. 207-213.
39. Perez-Vizcaíno F, Ibarra M, Gogolludo AL, Duarte J, Zaragoza-Arnaez F, Moreno L, Lopez-Lopez G, Tamargo J. (2002). Endothelium-independent vasodilator effects of the flavonoid quercetin and its methylated metabolites in rat conductance and resistance arteries. *J Pharmacol Exp Ther*, 302: 66-72.
40. Quan A., Leung S. W., Lao T. T., Man R. Y. (2003). 5-hydroxytryptamine and thromboxane A<sub>2</sub> as physiologic mediators of human umbilical artery closure. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 10 (8): 490-495.
41. Roberfroid Marcel B. (2000). Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *Am J Clin Nutr*, 71 (suppl): 1660s-4s.
42. Roginsky Vitaly y Lissi Eduardo. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food, *Food Chemistry*, September, Vol. 92, no. 2: 235-254.
43. Rodríguez, M. E. et al., 2003. Endothelium-dependent effects of the ethanolic extract of the mistletoe *Psittacanthus calyculathus* on the vasomotor responses of rat aortic rings. *Journal of Ethnopharmacology*, Issue 86, pp. 213-218.
44. Saavedra-Romero L. de L., Cárdenas-Soriano E, Alvarado-Rosales D., Estrada-Venegas E., Equihua-Martínez A. y González-Monzón U. (2005). Anatomía patológica del muérdago verdadero *Cladocolea loniceroides* van Tieghem parásito del ahuejote (*Salix bonplandiana*).
45. Sajner, J. & Veris, O., 1958. Occurrence of histamin in *Viscum album*. *Pharmazie*, Issue 13, p. 170.

46. Schachinger V, Britten M.B., Zeiher A.M. (2000). Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation*, 101: 1899-1906.
47. Sinha, A. et al., 1999. Glycoside primers of *Psittacanthus cucullaris*. *Journal of Natural Products*, Issue 62, pp. 1036-1038.
48. Wagner H., Feil B., Seligmann O., Petricic J. y Kavogjera Z. (1986). Phenylpropanes and lignans of *Viscum album* L. Cardioactive drugs V. *Planta Medica* 2: 77-162.
49. Winterferld, K. & Dorle, E., 1942. The active material of mistletoe (*Viscum album* L.) II. *Archives of Pharmacy*, pp. 23-23.
50. Yataro, O. (1941), *Journal of Agronomy*. The components of *Viscum album*. *Searching for nitrogenous compound; isolations of arginin*, Issue 17, pp. 219-221.
51. Zuleta A., Esteve M., Frigola A. (2009). ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*. 114: 310-316.

#### MONOGRAFÍA

1. Parra Blanco, Gustavo Joel. (2012). *Farmacología de la (-)-epicatequina*. Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Químicas. Disponible en: «<http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/32457/1/parrablanca.pdf>». [Consultado el 4 de diciembre de 2013].

#### TESIS

1. Cid-Villamil, R. M. (2006). *Biología del desarrollo de Cladocolea lonicerooides (Van Tieghem) (Kuijt), Loranthaceae* (Tesis de Doctorado). Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México: México, DF, 175 pp.

Serrano, M. (2010). *Evaluación de la actividad Antioxidante para el aprovechamiento del Muérdago que Infesta la Zona Chinampera de Xochimilco*. Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Biotecnología, México: México, DF, 120 pp.

TRABAJOS PRESENTADOS EN REUNIONES ACADÉMICAS

1. Durán, G., Zúñiga, B., Muñoz, V., Herrera, J., Guevara, P. y Pérez, M. (2010). *Cladocolea Ioniceroides* (Loranthaceae), hemiparásita con actividad antimicrobiana. En: *xviii Congreso Mexicano de Botánica. La botánica nacional en el bicentenario de la independencia* (21-27 de noviembre. México: Guadalajara, Jalisco), p. 626.
2. Morales C., Durán, G., Zúñiga B., Muñoz V., Herrera J. y Guevara P. (2010). *Estudio de la actividad citotóxica de Cladocolea Ioniceroides y Struthanthus interruptus* (Loranthaceae). En: *xviii Congreso Mexicano de Botánica. La botánica nacional en el bicentenario de la independencia* (21-27 de noviembre), México.