



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Carrera de Biología  
Laboratorio de Terapia Molecular

Actividad antioxidante de hoja de *Tradescantia  
spathacea* en un modelo murino de cáncer

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G O

PRESENTA:

ALEJANDRA PAOLA PEDRAZA GARCÍA

Directora de Tesis

M. en C. Catalina Machuca Rodríguez

CDMX AGOSTO 2017





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA  
Carrera de Biología

Laboratorio de Terapia Molecular



**Actividad antioxidante de hoja de *Tradescantia spathacea* en un  
modelo murino de cáncer**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**B I Ó L O G O**

**PRESENTA:**

**ALEJANDRA PAOLA PEDRAZA GARCÍA**

**Asesor: M. en C. Catalina Machuca Rodríguez**

**SINODALES:**

**Presidente: M. en C. Carlos Bautista Reyes**

**Vocal: M. en C. Catalina Machuca Rodríguez**

**Secretario: Dra. María Esther Cruz Beltrán**

**Suplente: Biól. Aida Zapata Cruz**

**Suplente: M. en C. Arturo Eduardo Cano Flores**

**MÉXICO, CDMX. AGOSTO DE 2017**

**“Aprendí que el coraje no era la ausencia de miedo, sino el triunfo sobre él. El valiente no es quien no siente miedo, sino aquel que conquista ese miedo.”**

**– Nelson Mandela**

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, por haberme formando en el ámbito profesional, con calidad.

A la M. en C. Catalina Machuca Rodríguez, por permitirme ingresar al laboratorio, por su tiempo, amistad apoyo y todas las correcciones que realizo en mí, tanto a nivel académico, como personal. Gracias.

Al Dr. Ernesto Mendoza por su amistad, por el apoyo brindado en el laboratorio y por las palabras de aliento para poder culminar el trabajo. Muchas gracias.

A mis sinodales:

M. en C. Carlos Bautista Reyes

M. en C. Catalina Machuca Rodríguez

Dra. María Esther Cruz Beltrán

Biól. Aida Zapata Cruz

M. en C. Arturo Eduardo Cano Flores

Por el tiempo invertido en la revisión de este proyecto, por sus correcciones y críticas constructivas para hacer de este trabajo una mejor tesis, Gracias.

## DEDICATORIAS

Todo comienzo tiene un fin... con la presente tesis, se termina mi estancia en la universidad, comencé una carrera, quizá con miedo, pero nunca desistiendo, hoy sé que no sólo adquirí conocimientos, pues también fueron 4 años de experiencias que me convirtieron en la persona que soy ahora.

Quiero dedicar esta tesis a **mis padres**, que brindaron lo necesario para mi desarrollo, que a pesar de las circunstancias, fueron soporte para cumplir cada uno de los objetivos trazados a lo largo de mi vida.

A **mis hermanos**, por estar conmigo en los momentos más importantes. **Jorge**, por tu apoyo y cariño, hoy cumplí una de las metas tan esperadas, así como tú cumples las tuyas, nos hemos visto crecer y hemos confiado en que siempre se puede hacer lo que se propone, espero sigas adelante, éxito. **Lupita**, por la ayuda que me has brindado y el impulso que me has dado a lo largo de la carrera, siempre podrán contar conmigo; tú y Leo, deseo que siempre les vaya bien.

A **Jorge**, por tu apoyo incondicional brindado desde el primer día de la carrera, por ser mi mejor amigo y convertirme en más que eso, siempre confiando en mí, impulsándome a seguir adelante, con valor y credibilidad de que puedo llegar a ser todo lo que me propongo, por no dejarme caer bajo ninguna circunstancia e ir siempre a mi lado, porque encontrarte fue la mejor coincidencia, para completarme y ser mejor persona. Gracias por tanta comprensión en los momentos más estresantes de esta etapa, por las risas y momentos difíciles que más nos unieron y finalmente por seguir aquí conmigo y con todas las ganas del mundo para hacer mejores cosas. Me hace feliz vernos crecer y ver como nuestros propósitos se van cumpliendo, porque éste logró también es tuyo♥. Te amo.

A **mi Abuelita**, por su ayuda, consejos y esos días que dedico en mi preparación.

A todas esas personas, **familia y amigos** que me apoyaron en alguna parte de mi vida para poder llegar a este momento.

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Terapia Molecular, L-7 P.A de la Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza (UMIEZ) FES- Zaragoza, UNAM; bajo la dirección de la M en C. Catalina Machuca Rodríguez.

## Índice

I.	Resumen .....	1
II.	Introducción.....	2
III.	Marco Teórico	
3.1	Radicales libres .....	3
3.1.1	Biomecanismos de formación de radicales libres .....	3
3.1.2	Especies Reactivas .....	4
3.1.3	Especies Reactivas de oxígeno (ROS) .....	5
3.1.4	Especies Reactivas de nitrógeno (RNS).....	6
3.1.5	Efecto nocivo de RL a biomoléculas .....	7
3.1.6	Estrés oxidativo y su relación con el cáncer.....	8
3.1.7	Enfermedades asociadas a estrés oxidativo .....	11
3.2	Mecanismos antioxidantes.....	12
3.2.1	Antioxidante: definición .....	13
3.2.2	Sistema de defensa antioxidante y su clasificación.....	14
3.2.3	Enzima catalasa y su función como antioxidante .....	17
3.2.4	Terapia antioxidante.....	17
3.2.5	Metabolitos secundarios en las plantas como fuente natural de antioxidantes.....	18
3.3	Familia Commelinaceae .....	18
3.3.1	Descripción Botánica .....	19
3.3.2	Estudios Químicos.....	19
3.3.3	Estudios Farmacológicos .....	20
3.4.	Género <i>Tradescantia</i> .....	20
3.4.1	Descripción Botánica .....	21
3.5	<i>Tradescantia spathacea Sw.</i> .....	21
3.5.1	Clasificación Taxonómica .....	21
3.5.2	Sinónimos.....	21
3.5.3	Nombres Comunes.....	21
3.5.4	Descripción Botánica.....	22
3.5.5	Hábitat .....	22
3.5.6	Distribución .....	23
3.5.7	Registros etnobotánicos.....	24
3.5.8	Estudios Químicos.....	24
3.5.9	Estudios Farmacológicos .....	25
3.6	Metabolitos Secundarios.....	26



IV.	Justificación.....	29
V.	Hipótesis .....	29
VI.	Objetivos .....	30
VII.	Método	
	7.1 Localidad de Colecta .....	30
	7.2 Recopilación de Información Etnofarmacológica .....	31
	7.3 Obtención de Extractos .....	31
	7.3.1 Preparación de extracto acuoso 1.....	31
	7.3.2 Preparación de extracto acuoso 2.....	31
	7.3.3 Preparación de extracto hidroalcohólico .....	31
	7.4 Identificación de Metabolitos Secundarios.....	32
	7.4.1 Alcaloides.....	32
	7.4.2 Glicósidos Cardiotónicos .....	32
	7.4.3 Esteroides y Triterpenos Libres.....	32
	7.4.4 Flavonoides .....	32
	7.4.5 Taninos .....	33
	7.4.6 Saponinas.....	33
	7.4.7 Naftoquinonas y Antraquinonas .....	33
	7.4.8 Cumarinas .....	33
	7.5 Modelo Experimental.....	33
	7.5.1 Inducción de Carcinomas por Oxido de Níquel .....	34
	7.5.2 Tratamiento con Extractos Acuosos.....	34
	7.5.3 Obtención de Plasma y Homogenado de Hígado .....	35
	7.6 Evaluación de Actividad Antioxidante .....	35
	7.6.1 Cuantificación de Proteína Total por Método de Biuret.....	36
	7.6.2 Cuantificación de Óxido Nítrico por Método de Griess Saltzman .....	36
	7.6.3 Actividad de Catalasa por Método de Chance y Machley .....	37
	7.6.4 Cuantificación de Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)..	37
	7.7 Análisis Estadístico .....	37
VIII.	Resultados	
	8.1 Registro etnofarmacológico de <i>Tradescantia spathacea</i> .....	37
	8.2 Rendimiento de extracción de <i>Tradescantia spathacea</i> .....	40
	8.3 Análisis Fitoquímico Preliminar de <i>Tradescantia spathacea</i> .....	41
	8.4 Efecto de los extractos de hoja de <i>T. spathacea</i> sobre la concentración de óxido nítrico.....	44
	8.5 Efecto de los extractos de hoja de <i>T. spathacea</i> sobre la concentración	

	de la catalasa.....	46
	8.6 Efecto de los extractos de hoja de <i>T. spathacea</i> sobre la concentración de MDA.....	48
IX.	<b>Análisis de resultados</b>	
	9.1 Registro etnofarmacológico de <i>Tradescantia spathacea</i> .....	49
	9.2 Análisis fitoquímico preliminar de <i>Tradescantia spathacea</i> .....	50
	9.3 Efecto de los extractos acuosos de <i>T. spathacea</i> sobre la concentración de óxido nítrico.....	52
	9.4 Efecto de los extractos acuosos de <i>T. spathacea</i> en la actividad de la catalasa.....	53
	9.5 Efecto de los extractos acuosos de <i>T. spathacea</i> en la concentración de MDA.....	54
X.	<b>Conclusiones</b>	
XI.	<b>Referencias</b>	
XII.	<b>Anexos</b>	
	12.1 Formulario de encuesta etnofarmacológica .....	64
	12.2 Reacciones químicas de identificación de metabolitos secundarios .....	65
	12.3 Fotografías de formación de tumores.....	67

## Índice de Figuras

Figura 1. Formación de radical hidroxilo .....	4
Figura 2. Producción de especies reactivas de oxígeno .....	6
Figura 3. Síntesis de óxido nítrico .....	7
Figura 4. Factores que influyen en la elevación del EO en pacientes con cáncer .....	9
Figura 5. Fases de la carcinogénesis .....	10
Figura 6. Participación de ROS/NOS en los diferentes estudios de carcinogénesis .....	11
Figura 7. Sistema de detoxificación de las ROS .....	12
Figura 8. Principales sistemas celulares de defensa antioxidante.....	13
Figura 9. Hojas y flores de <i>Tradescantia spathacea</i> .....	22
Figura 10. Distribución de <i>Tradescantia spathacea</i> .....	23
Figura 11. <i>Tradescantia spathacea</i> en el lugar de colecta .....	30
Figura 12. Pruebas colorimétricas de los extractos de <i>Tradescantia spathacea</i> .....	43
Figura 13. Acumulación de NiO .....	67
Figura 14. Formación de tumor en hígado .....	67
Figura 15. Identificación de tumor en hígado.....	67
Figura 16. Formación de tumor en hígado .....	68

## Índice de Tablas

Tabla 1. Mecanismos de formación de radicales libres.....	3
Tabla 2. Especies reactivas de oxígeno (ROS) .....	5
Tabla 3. Especies reactivas de nitrógeno (RNS) .....	7
Tabla 4. Enfermedades neurodegenerativas asociadas a EO por daño a proteínas .....	12
Tabla 5. Sistema antioxidante enzimático y no enzimático.....	15
Tabla 6. Fuentes antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos .....	16
Tabla 7. Efectos clínicos de los flavonoides .....	18
Tabla 8. Propiedades biológicas de los metabolitos secundarios .....	27
Tabla 9. Modelo experimental .....	34
Tabla 10. Dosis de cada extracto de hoja de <i>Tradescantia spathacea</i> .....	35
Tabla 11. Usos medicinales de <i>T. spathacea</i> reportados en las entrevistas .....	39
Tabla 12. Resumen del uso de <i>T. spathacea</i> según el registro etnofarmacológico .....	39
Tabla 13. Plantas utilizadas con <i>Tradescantia spathacea</i> .....	40
Tabla 14. Rendimiento de extracción de <i>Tradescantia spathacea</i> .....	40
Tabla 15. Análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso I de hoja de <i>T. spathacea</i> .....	41
Tabla 16. Análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso II de hoja de <i>T. spathacea</i> .....	42
Tabla 17. Análisis fitoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico de hoja de <i>T. spathacea</i> .....	43

## Índice de Gráficas

Gráfica 1. Porcentaje e incidencia de uso de <i>Tradescantia spathacea</i> .....	37
Gráfica 2. Pesos de ratones durante el experimento .....	42
Gráfica 3. Efecto de los extractos acuosos de <i>T. spathacea</i> sobre la concentración de Óxido Nítrico ( $\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína) en plasma de ratones hembra de cepa CD-1 .....	43
Gráfica 4. Efecto de los extractos acuosos de <i>T. spathacea</i> sobre la concentración de Óxido Nítrico ( $\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína) en hígado de ratones hembra de cepa CD-1 .....	44
Gráfica 5. Efecto de los extractos acuosos de hoja de <i>T. spathacea</i> sobre la actividad de la Catalasa en plasma de ratones hembra de cepa CD-1 .....	45
Gráfica 6. Efecto de los extractos acuosos de hoja de <i>T. spathacea</i> sobre la actividad de la Catalasa en hígado de ratones hembra de cepa CD-1 .....	46
Gráfica 7. . Efecto de los extractos acuosos de hoja de <i>T. spathacea</i> sobre la concentración de MDA en hígado de ratones hembra de cepa CD-1.....	47

## I. RESUMEN

*Tradescantia Spathacea* es una herbácea de América, en la República Mexicana ha sido localizada en los estados de Chiapas, Puebla, Tabasco, Yucatán, Quintana Roo y Veracruz, donde se conoce comúnmente como “Hierba del cáncer” y es empleada en la medicina tradicional como antiinflamatorio, antiviral, antimicrobiano y antitumoral. Entre las sustancias bioactivas que caracterizan a la especie se encuentran las antocianinas de tipo rhoeanina, flavonoides de tipo quercetina, compuestos cumarínicos y esteroides, además de dos compuestos descubiertos en la especie: tradescantin y tradescantoside. De acuerdo a los estudios realizados a la planta se ha demostrado que extractos etanólicos presentan actividad antioxidante y extractos acuosos mejoran el daño hepático preneoplásico. Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo fue analizar la actividad antioxidante de extracto acuoso de hoja de *Tradescantia spathacea* en ratones hembra de la cepa CD-1 inducidos a cáncer con óxido de níquel (NiO); así como una identificación de metabolitos secundarios mediante métodos colorimétricos específicos para cada compuesto (glicósidos cardiotónicos (Keller Killiani), alcaloides (Dragendorf y Mayer), taninos (gelatina-sal), flavonoides (Shinoda), saponinas (espuma, rosenthaler), cumarinas (fluorescencia, Hidroxamato férrico), naftoquinonas y antraquinonas (Bornträger- Kraus), esteroides y triterpenos libres (Lieberman Burchard). La actividad antioxidante fue analizada in vivo administrando un tratamiento con dosis de 13.9 mg/kg, 26.4 mg/kg y 68 mg/kg de extracto durante 15 días, evaluando parámetros de estrés oxidativo como el sistema antioxidante de catalasa (CAT), óxido nítrico y cuantificación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). La presencia de alcaloides, taninos, flavonoides y cumarinas fue observada en ambos extractos. Los resultados indican que los tratamientos con extractos de *T. spathacea* disminuyen significativamente la concentración de óxido nítrico plasmático, principalmente el tratamiento I (13.9 mg/kg), mientras que el tratamiento II (26.4 mg/kg) disminuyó la concentración de óxido nítrico en tejido hepático. Con respecto a la actividad de catalasa el tratamiento II (26.4 mg/kg), presentó mayor similitud en concentración respecto al control negativo, tanto a nivel plasmático como hepático. En condiciones experimentales se demostró que el extracto acuoso de hoja de *Tradescantia spathacea* ejerce un efecto antioxidante en ratones hembra cepa CD-1, inducidos a cáncer con NiO.

## II. INTRODUCCIÓN

Durante el proceso evolutivo, con la aparición de organismos fotosintéticos, el oxígeno se acumuló de manera significativa en la atmósfera terrestre, hecho que hizo posible el desarrollo de la vida aeróbica en nuestro planeta (Hansberg, 2002). Aunado a este acontecimiento los organismos aeróbicos desarrollaron los mecanismos necesarios para utilizar dicha molécula, lo que permitió a las células tener sistemas de producción de energía altamente eficientes a través de la oxidación de la glucosa (Martínez et al., 2003). Sin embargo, la utilización del oxígeno por las células, trajo como consecuencia, el aumento en la producción de radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ROS), lo cual requirió el desarrollo de mecanismos antioxidantes (García et al., 2012). Cuando la producción de radicales libres (Especies Reactivas de Oxígeno y Especies Reactivas de Nitrógeno) supera la capacidad de los mecanismos de defensa, se desarrolla una situación bioquímica denominada estrés oxidativo (EO), la cual se caracteriza por su capacidad de reaccionar con distintas biomoléculas generando daños permanentes al DNA, implicados en la carcinogénesis (Hart et al., 2012).

Existen evidencias que relacionan la participación del estrés oxidativo en la carcinogénesis, hecho que ha conducido a la hipótesis de que los antioxidantes pueden ser útiles en su tratamiento y prevención (Coulter et al., 2003). Bajo este contexto se ha considerado a las plantas como principales fuentes bioactivas en la lucha contra el cáncer. Debido a ello el presente trabajo se enfoca a analizar el potencial antioxidante de *Tradescantia spathacea*.

### III. MARCO TEORICO

#### 3.1 Radicales Libres

Los radicales libres (RL) son todas aquellas especies químicas, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera gran inestabilidad. Poseen una estructura birradicálica, tienen una vida media corta, por lo que actúan cercanamente al sitio en que se forman, son difíciles de dosificar y son muy reactivos (Venereo, 2003), son capaces de reaccionar con diversas moléculas orgánicas, mecanismos a través de los cuales provocan daños a nivel celular y tisular, causando alteraciones funcionales (Insua, 2003). Desde el punto de vista molecular se producen por diferentes mecanismos entre los que se encuentran la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones a nivel microsomal y en las reacciones de oxidación (Venereo, 2002).

##### 3.1.1 Biomecanismos de formación de radicales libres

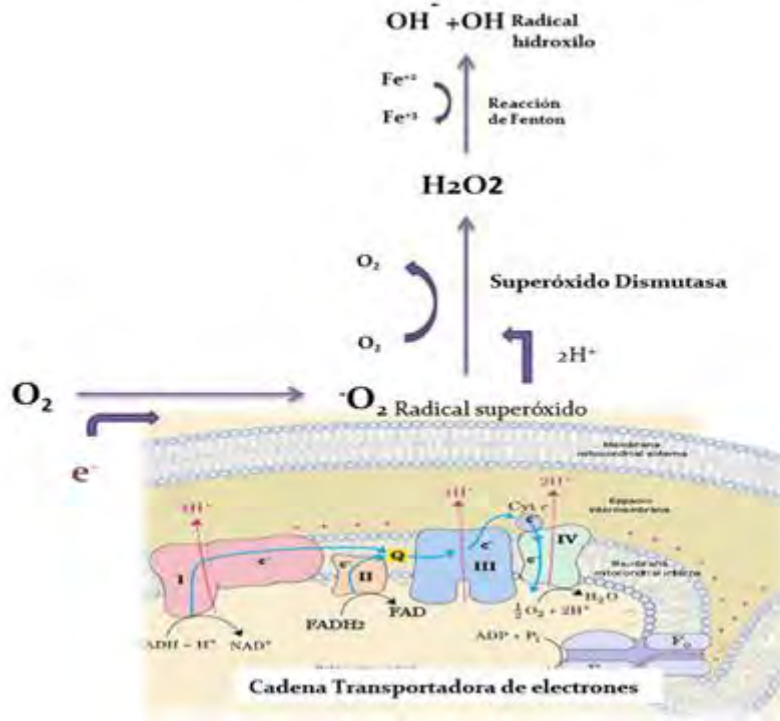
A nivel extracelular la formación de tipo aeróbica de los RL se encuentra mediada por dos tipos de factores; los físicos, tales como radiaciones ionizantes y los químicos como lo son: la contaminación ambiental, el humo de cigarrillo, algunos aditivos químicos en alimentos procesados, hidrocarburos aromáticos, ciertos xenobióticos como pesticidas, fungicidas y herbicidas (Adachi et al., 2004).

Sin embargo los RL también se producen en la célula, por tres pasos fundamentales (tabla 1) a través de reacciones de transferencia de electrones, con o sin participación enzimática, pero mediada por iones metálicos de transición; tal es el caso del radical  $\text{OH}^\bullet$  que es generado siempre que el  $\text{H}_2\text{O}_2$  entra en contacto con iones cobre ( $\text{Cu}^{+2}$ ) o iones ferrosos ( $\text{Fe}^{+2}$ ). Ya que el  $\text{H}_2\text{O}_2$  y los complejos metálicos están presentes en humanos, es lógico asumir que el  $\text{OH}^\bullet$  puede ser formado *in vivo* a través de la cadena de transporte de electores (Figura 1).

**Tabla 1. Mecanismos de formación de radicales libres**

Formación de Radicales Libres	
1.	Transferencia electrónica
2.	Perdida de un protón de una molécula
3.	Ruptura hemolítica de un enlace de cualquier molécula
Ejemplo	





**Figura 1. Formación de radical hidroxilo.**

Considerada la mayor fuente de formación de radicales libres. Del total del oxígeno que llega a la mitocondria, del 5 al 10% se reduce por la acción de los electrones procedentes de los transportadores de la cadena respiratoria que escapan de ésta. (Modificado de Maldonado *et al.*, 2010).

### 3.1.2 Especies reactivas

Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón (reducción) que necesita, la molécula estable que lo pierde (oxidación) se convierte a su vez en una especie reactiva por quedar con un electrón desapareado, y aunque no todas son RL, son moléculas oxidantes que se transforman fácilmente en éstos, iniciándose así una reacción en cadena. Debido a que los radicales libres no poseen receptores específicos, tienen una capacidad de agresión indiscriminada sobre células y tejidos vivos.

Como producto de nuestro metabolismo se generan distintos tipos de radicales libres, existen cuatro clasificaciones, las especies reactivas de oxígeno (ROS), especies reactivas de nitrógeno (RNS), especies reactivas de hierro (RIS) y las especies reactivas de cobre (RCS) (Martinez *et al.*, 2003). Dentro de estas especies reactivas las más importantes a nivel celular son las ROS y las RNS, las cuales se encuentran definidas por su capacidad prooxidante (Maldonado *et al.*, 2010), (Venereo, 2002).

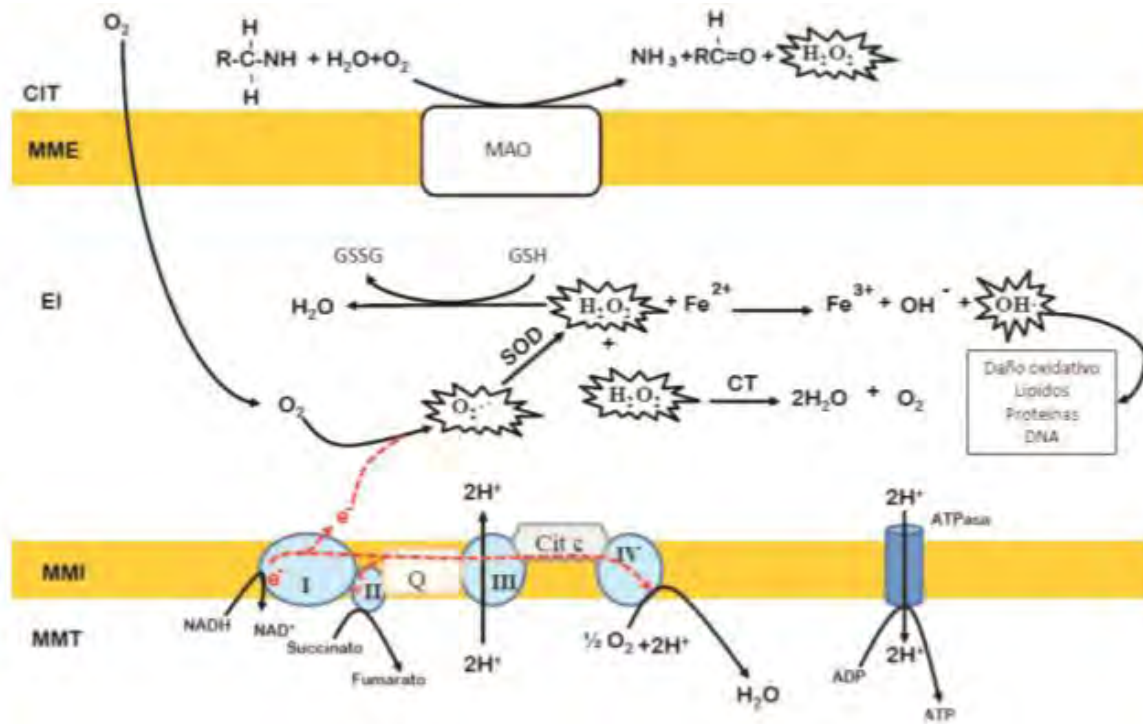
### 3.1.3 Especies reactivas de oxígeno (ROS)

El oxígeno molecular ( $O_2$ ) tiene dos electrones no apareados en su orbital externo, su reactividad resulta de esta propiedad birradical y debido a su labilidad química, se da origen a la expresión “especies reactivas de oxígeno”; un término colectivo que involucra no sólo a los RL derivados del oxígeno, sino también a los no radicales derivados de la reducción molecular del oxígeno, y que además son muy reactivos (Tabla 2) (Cárdenas y Pedraza, 2006).

**Tabla 2. Especies reactivas de oxígeno (ROS).**

Radicales libres	
Superóxido	$(O_2^{\cdot-})$
Hidroxilo	$(OH^{\cdot})$
Peroxilo	$(RO_2^{\cdot})$
Alcoxilo	$(RO^{\cdot})$
Hidroperoxilo	$(HO_2^{\cdot})$

La capacidad prooxidante de cada radical libre está determinada por factores como: reactividad, especificidad, selectividad y difusibilidad. De este modo, el radical hidroxilo reaccionará con cualquier molécula cercana, dada su elevada reactividad y baja especificidad y su peligro dependerá del compartimento celular en el que se origine o las moléculas a las que ataque. Especies menos reactivas, como el superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), reaccionan con menor eficacia pero de forma mucho más específica y selectiva, afectando a enzimas como la xantino oxidasa y la aldehído oxidasa. Se ha observado su participación en numerosos procesos citotóxicos, a pesar de ser una especie menos reactiva que otros radicales. Tal parece que es un agente que no actúa directamente, sino que, al metabolizarse por la enzima superóxido dismutasa (SOD) a peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) puede actuar por sí mismo como fuente de otros radicales libres y como reductor de iones metálicos de transición (Figura 2).



**Figura 2. Producción de especies reactivas de oxígeno.**

Las mitocondrias son la fuente principal de producción de ROS entre las que se incluyen los RL. Durante la fosforilación oxidativa, existe un flujo (- - -) de electrones ( $e^-$ ) a través de los complejos (del I al IV) de la cadena respiratoria en la membrana mitocondrial interna (MMI), donde el oxígeno molecular es el último receptor de electrones, dando como resultado la producción de agua y la obtención de energía con la formación de ATP. Durante su viaje a través de la cadena respiratoria, algunos electrones pueden escapar de los diversos complejos que forman la cadena y reducir el oxígeno molecular dando lugar a la formación del superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ); éste, mediante la acción de la enzima superóxido dismutasa (SOD), da origen al peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), que también puede ser formado mediante la acción de la monoamina oxidasa (MAO), enzima que se encuentra en la membrana mitocondrial externa (MME). El  $H_2O_2$  puede ser inactivado mediante la acción de la enzima catalasa o mediante la actividad de la glutatión, o bien al encontrarse en presencia de metales de transición como el hierro, y dar lugar a la reacción de Fenton para formar el RL más reactivo y más dañino: el radical hidroxilo ( $OH^\bullet$ ), responsable de la mayoría de los daños celulares causados por los RL, cuando éstos logran escapar del espacio intermembranal (EI) de la mitocondria al citosol (CIT) o a la matriz mitocondrial (MMT).

### 3.1.4 Especies reactivas de nitrógeno (RNS)

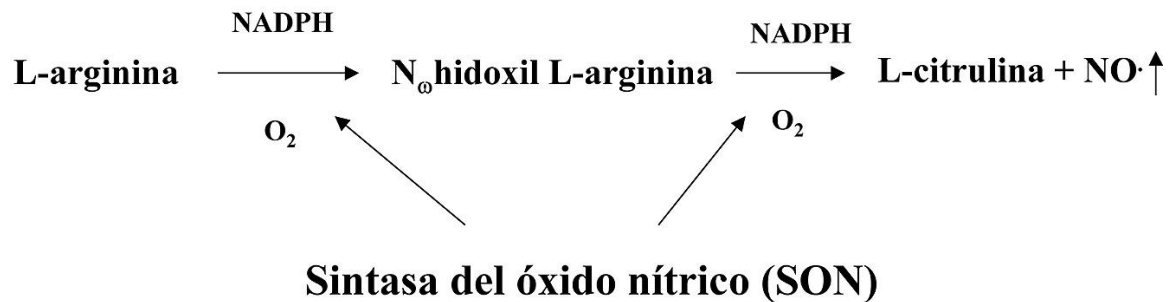
Las especies reactivas de nitrógeno (RNS) incluyen radicales libres y moléculas que no tienen carácter de radical libre, (Tabla 3). El representante más sobresaliente de las RNS es el óxido nítrico ( $\bullet NO$ ), ya que interviene en diversas funciones biológicas, participa como constituyente del factor relajante derivado del endotelio, el cual puede relajar la musculatura lisa vascular, inhibir la agregación plaquetaria y disminuir o inhibir la transmisión del mensaje neuronal; también es importante en la repuesta inmune, pues los macrófagos producen óxido nítrico como parte de sus mecanismos citotóxicos (Maldonado *et al*, 2010).

**Tabla 3. Especies Reactivas de Nitrógeno (RNS).**

Radical libre		Especies reactivas no radicales	
Óxido nítrico	(NO <sup>•</sup> )	Peroxinitrito	(ONOO) ↓
Dióxido nítrico	(NO <sub>2</sub> <sup>•</sup> )		NO <sup>•</sup> O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>

La molécula de NO carece de carga, lo cual le permite difundir libremente a través de las membranas celulares y reacciona con el oxígeno de la atmósfera a temperatura ambiente, formando bióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>) (Sánchez, 2003).

El NO es el factor endógeno relajante del endotelio más importante, provocando dilatación del músculo liso vascular en respuesta a la estimulación celular endotelial. Es sintetizado en las células endoteliales por la enzima óxido nítrico sintetasa (SON), que utilizando como sustratos el fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADPH), y el oxígeno, convierte la L-arginina en NO y citrulina (Figura 3) (Sánchez, 2003).



**Figura 3. Síntesis de óxido nítrico.**

### 3.1.5 Efecto nocivo de radicales libres a biomoléculas

El daño celular producido por las especies reactivas del oxígeno ocurre sobre diferentes macromoléculas:

1. *Lípidos*. Es aquí donde se produce el daño mayor en un proceso que se conoce como peroxidación lipídica, afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados, ya que se altera la permeabilidad de la membrana celular produciéndose edema y muerte celular. La peroxidación lipídica o enranciamiento oxidativo representa una forma de daño hístico que puede ser desencadenado por el oxígeno, el oxígeno singulete, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo. Los ácidos grasos insaturados son componentes esenciales de las membranas celulares, por lo que se cree son importantes para su funcionamiento normal; sin embargo, son vulnerables al ataque oxidativo iniciado por los radicales libres del oxígeno (Justo, 2002).

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

- a) La naturaleza cualitativa y cuantitativa del agente inicializador.
- b) Los contenidos de la membrana en ácidos grasos poliinsaturados y su accesibilidad.
- d) La presencia de hierro.
- e) El contenido celular de antioxidantes ( $\beta$ -carotenos,  $\alpha$ -tocoferoles, glutatión).
- f) La activación de enzimas que pueden hacer terminar la cadena de reacción como es el caso de la glutatión peroxidasa (GSH-Prx).

Una vez que se inicia, el proceso toma forma de “cascada”, con producción de radicales libres que lleva a la formación de peróxidos orgánicos y otros productos, a partir de los ácidos grasos insaturados; una vez formados, estos radicales libres son los responsables de los efectos citotóxicos.

2. *Proteínas*. Hay oxidación de un grupo de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, histidina y metionina; además se forman entrecruzamientos de cadenas peptídicas, y por último hay formación de grupos carbonilos (Justo, 2002).

3. *Ácido desoxirribonucleico (ADN)*. Ocurren fenómenos de mutaciones y carcinogénesis, hay pérdida de expresión o síntesis de una proteína por daño a un gen específico, modificaciones oxidativas de las bases, deleciones, fragmentaciones, interacciones estables ADN-proteínas, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN que activan genes. El daño se puede realizar por la alteración (inactivación/pérdida de algunos genes supresores de tumores que pueden conducir a la iniciación, progresión, o ambas de la carcinogénesis). Los genes supresores de tumores pueden ser modificados por un simple cambio en una base crítica de la secuencia del ADN (Justo, 2002).

### 3.1.6 Estrés oxidativo y su relación con el cáncer

El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno. Todo esto trae como consecuencia alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado; por lo tanto se reconoce como mecanismo general de daño celular, asociado con la fisiopatología primaria o la evolución de un número creciente de entidades y síndromes de interés médico-social, involucrado en la génesis y en las consecuencias de dichos eventos (Justo, 2002).

Por otra parte, se encuentra el cáncer, que es per se una enfermedad inductora de estrés oxidativo, ya que las células neoplásicas producen de forma intrínseca una mayor cantidad de especies reactivas de oxígeno (ERO) que las células normales. Algunos estudios han observado que pacientes con cáncer avanzado presentan concentraciones plasmáticas de ERO más elevadas

que los sujetos sanos, mientras que los niveles de actividad enzimática de los sistemas antioxidantes como glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa (SOD) se hallan disminuidos (Viñas, Puig y Porta, 2012).

Los mecanismos por los cuales las células neoplásicas presentan niveles de ERO más elevados que las células normales pueden ser múltiples. En primer lugar, las células neoplásicas tienen incrementadas sus necesidades metabólicas, por lo que requieren mayores cantidades de ATP producido por las mitocondrias para mantener su elevado ritmo de crecimiento y proliferación. La síntesis desmesurada de ATP mitocondrial contribuye a la producción de ERO. A esto se le añade que las células tumorales utilizan en mayor grado la vía de la glucólisis para la síntesis de ATP (efecto *Warburg*), que es mucho menos efectiva que la cadena respiratoria mitocondrial. Esta alteración en el funcionamiento mitocondrial favorece la fuga de electrones desde el complejo respiratorio hacia el citoplasma, originándose una mayor cantidad de radicales libres intracelulares. Al estrés oxidativo generado por las alteraciones metabólicas de las células neoplásicas se le añade la producción de grandes cantidades de ERO por parte de las células inflamatorias que infiltran el tejido tumoral y que incrementan el estrés oxidativo en el microambiente tumoral.

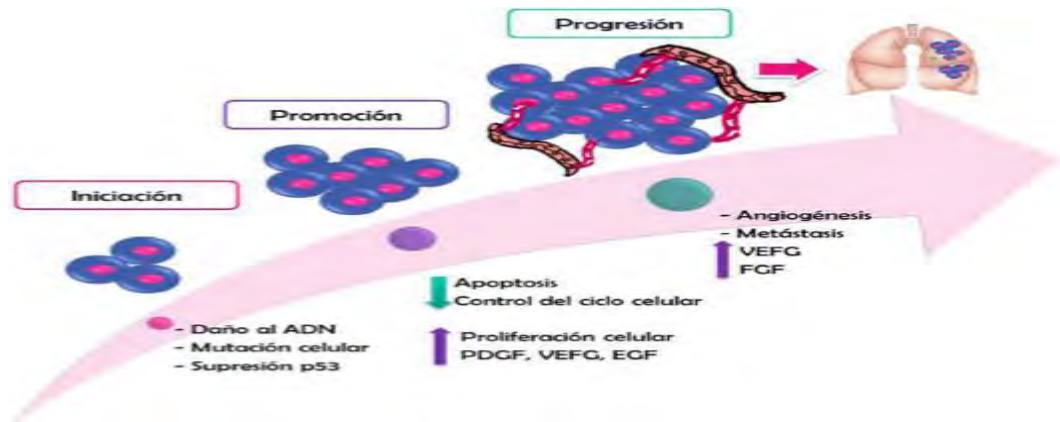
Además, la mayoría de los pacientes oncológicos padecen anorexia, hecho que impide el correcto aporte de nutrientes y por lo tanto un déficit de vitaminas y otros antioxidantes que compensen la producción de radicales libres. Este déficit puede verse agravado por las náuseas y los vómitos originados por los tratamientos oncológicos o por la propia enfermedad, que dificultan la ingesta de alimentos. A todos estos factores hay que añadirles los radicales libres generados por los tratamientos oncológicos específicos como la quimioterapia y/o la radioterapia (Fig. 4) (Viñas *et al.*, 2012).



**Figura 4. Factores que influyen en la elevación del EO en pacientes con cáncer.**

Existen estudios que sugieren que la respuesta de las células tumorales a las ERO puede ser dependiente de la dosis, ya que niveles elevados de estrés oxidativo son tóxicos para las células tumorales, mientras que niveles bajos pueden estimular la proliferación celular. Algunos mecanismos de defensa adaptativa celular, como las enzimas antioxidantes y los sistemas de protección redox, ayudan a regular el estrés oxidativo leve, no obstante estos mecanismos tienen

una capacidad limitada en las células neoplásicas, por lo que una producción excesiva de ERO durante el tratamiento de quimioterapia puede elevar los niveles de estrés oxidativo hasta tal punto que desencadenen la muerte celular. Por otro lado las ERO pueden actuar como mensajeros en las vías de transducción de señal intracelular y promover el crecimiento y proliferación celular contribuyendo al desarrollo del cáncer (Figura 5 y 6). En la iniciación se produce el daño al ADN y por lo tanto la mutación celular, durante la promoción las células mutadas se dividen rápidamente por pérdida del control del ciclo celular y disminución de la apoptosis, finalmente en la fase de progresión las células tumorales adquieren habilidad angiogénica y metastásica con lo cual migran y colonizan tejidos distantes. Además, cambios en el estado redox de algunos factores de transcripción pueden contribuir a la proliferación celular incontrolada (Viñas *et al.*, 2012).



**Figura 5. Fases de la carcinogénesis**





**Figura 6. Participación de ROS/RNS en los diferentes estadios de carcinogénesis.** (Modificado de Zorrilla *et al.*, 2004).

### 3.1.7 Enfermedades asociadas a estrés oxidativo

El daño celular que producen las especies reactivas y los radicales libres provoca gran variedad de cambios bioquímicos y fisiológicos en la célula, ocasionados por la activación de una reacción en cadena, induciendo a que se presenten diversas enfermedades, como mutagénesis, transformación celular, envejecimiento celular, trastornos del sistema nervioso central, infarto de miocardio, diabetes, aterosclerosis, procesos inflamatorios, el de isquemia/reperfusión, enfermedad de Alzheimer, Parkinson, cataratas, depresión, diversos tipos de cáncer, entre otros (Tabla 4) (Ghosh, 2000).

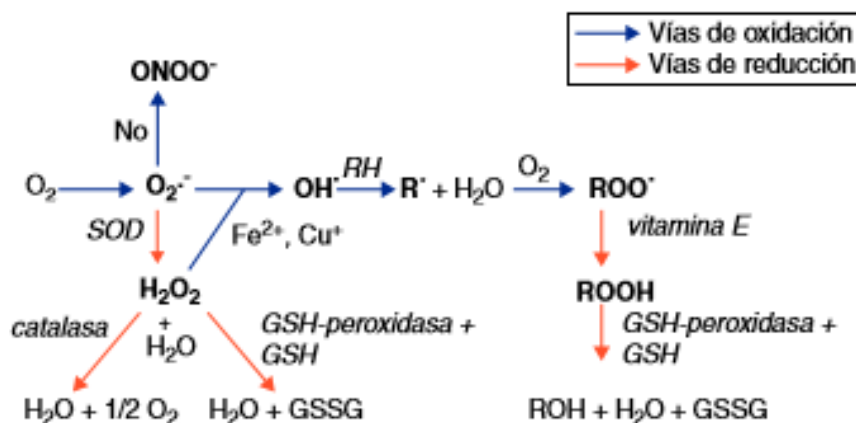


**Tabla 4. Enfermedades neurodegenerativas asociadas a EO por daño a proteínas. (Modificado de Dorado, et al., 2003).**

Proteína alterada	Lesión	Enfermedad neurodegenerativa
B-Amiloides	Formación de placa	Enfermedad de Alzheimer
Proteína TAU	Maraña neurofibrilar	Demencia frontotemporal
Huntingtina	Inclusiones nucleares	Enfermedad de Huntington
$\alpha$ - Sinucleína	Cuerpo de Lewly	Enfermedad de Parkinson

### 3.2 Mecanismos antioxidantes

Las reacciones de óxido- reducción son esenciales en los procesos metabólicos, debido a ello el cuerpo humano mantiene un balance constante que preserva el equilibrio entre las sustancias generadas (Montero, 1996). Cuando ocurre un desbalance, el organismo posee una serie de mecanismos de protección, de manera que los radicales libres derivados de la activación del oxígeno pueden ser transformados a productos menos tóxicos o no tóxicos (Drögue, 2002). Este sistema está constituido por un grupo de sustancias conocidas como “antioxidantes” que están especializados a la corta vida media, que presenta un RL y comprende moléculas pequeñas, endógenas y exógenas. La protección de las células contra los radicales libres derivados del oxígeno comprende no solo la captura de estos intermediarios agresivos, sino también la prevención de su formación, la inhibición de su propagación y la reparación de las lesiones (González, Betancourt y Ortiz, 2000). (Figura 7).



**Figura 7. Sistema de detoxificación de las ROS.**

Las flechas en azul indican las principales reacciones de oxidación y formación de ROS. Las flechas en rojo indican las principales vías de reducción y metabolización de las ERO. (Tomada de Viñas, et al., 2012)

La primera línea de defensa del organismo contra los radicales libres es la prevención, esto implica la acción de procedimientos que bloquean su formación, como sería la presencia de proteínas que se unen a metales (en particular hierro y cobre) lo que controla eficientemente la lipoperoxidación y la fragmentación del ADN, ya que de esta manera se evita la participación de estos metales en las reacciones donde se producen las diferentes especies reactivas de oxígeno. En un segundo nivel de protección está la acción de los antioxidantes, que eliminan a los radicales para suprimir su actividad nociva en la célula. Si después de la acción de los antioxidantes el daño persiste, el último nivel de protección de la célula consiste en la reparación de las lesiones, lo que reside básicamente en la actividad de enzimas que repararán el daño inducido por los radicales libres al ADN, y de otras que destruirán las proteínas dañadas por los radicales libres o las que removerán los ácidos grasos oxidados de las membranas (González, Betancourt y Ortiz, 2000).

### 3.2.1 Antioxidante: definición

Un antioxidante es aquella sustancia que está presente en bajas concentraciones respecto a la de un sustrato oxidable (biomolécula) retarda o previene su oxidación. Los antioxidantes que se encuentran naturalmente en el organismo y en ciertos alimentos pueden bloquear parte de este daño debido a que estabilizan los radicales libres; tienen la capacidad de inhibir la oxidación causada por éstos, actuando algunos a nivel intracelular y otros en la membrana de las células, siempre en conjunto para proteger a los diferentes órganos y sistemas (Figura 8). Los antioxidantes tienen como principal misión impedir la unión del O<sub>2</sub> con otras moléculas para evitar alteraciones en las moléculas esenciales, ejerciendo su acción tanto en medios hidrofílicos como hidrofóbicos. Su mecanismo de acción se basa principalmente en dos grupos; el primer grupo encargado de inhibir los mecanismos de activación sobre la cadena de radical y un segundo grupo que neutraliza la acción de los RL ya formados (Vázquez *et al*, 2012), (Halliwell y Gutteridge, 1999).

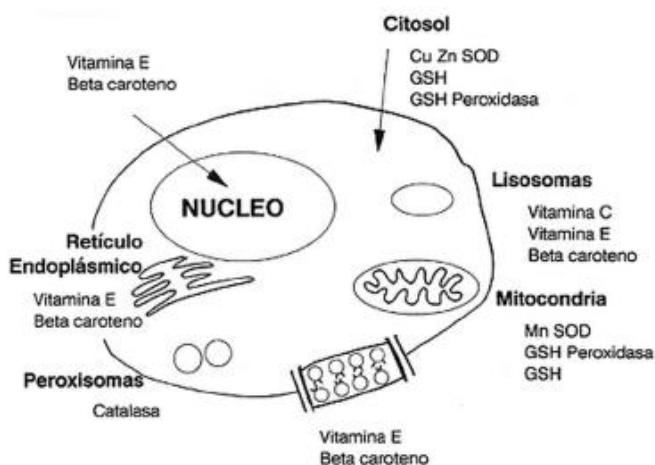


Figura 8. Principales sistemas celulares de defensa antioxidante.

### 3.2.2 Sistema de defensa antioxidante y su clasificación

Los sistemas biológicos en ambientes oxigenados han desarrollado mecanismos de defensa, tanto a nivel fisiológico como bioquímico. Entre ellos destacan, a nivel fisiológico, el sistema microvascular, cuya función es mantener los niveles de  $O_2$  en los tejidos, y a nivel bioquímico, la defensa antioxidante puede ser enzimática o no enzimática (Tabla 5); así como, ser un sistema reparador de moléculas.

Sistema enzimático: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx) y DT-diaforasa.

La SOD es la responsable de la reacción de dismutación del  $O_2^{\bullet-}$  a  $H_2O_2$ , que en reacciones posteriores, catalizadas por la catalasa o por la GPx, se convierte en  $H_2O$  y  $O_2$ . La catalasa tiene como función principal eliminar el  $H_2O_2$  generado de la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos, mientras que la GPx degrada el  $H_2O_2$  citoplasmático. La DT-diaforasa, cataliza la reducción de quinona a quinol y participa en la reducción de drogas de estructura quinónica (Martínez, 2007).

Los Sistemas no enzimáticos comprenden: La vitamina E, vitamina C,  $\beta$ -caroteno, ferritina, ceruloplasmina, selenio, glutatión reducido (GSH), manganeso, ubiquinona, zinc, ácido úrico, coenzima Q, melatonina, bilirrubina, taurina, cisteína y metabolitos secundarios como los flavonoides (Tabla 6).

**Tabla 5. Sistema antioxidante enzimático y no enzimático.**

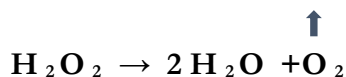
Enzimáticos		
Protegen al organismo contra la formación de nuevos RL y a la vez reparan biomoléculas dañadas por estos.		
I. Grupo	Modo de acción	Referencias
Superóxido dismutasa (SOD)	$O_2^- \longrightarrow H_2O_2$	(Céspedes et al., 1996)
Catalasa (CAT)	$H_2O_2 \longrightarrow H_2O + O_2$	(Céspedes et al., 1996)
Glutación peroxidasa (GPx)	$H_2O_2 \longrightarrow H_2O + O_2$	(Jones et al., 2000)
DT- diaforasa	$Q + 2 e^- + 2H^+ \longrightarrow QH_2$	(Begoña et al., 2013)
No Enzimáticos		
Cuya función principal es la captura de los RL deteniendo el proceso oxidativo.		
Clasificación:	Modo de acción	
Vitamina E	Neutraliza peróxidos y captura radicales OH <sup>·</sup>	(Mayor, 2010)
Carotenoides	Neutraliza al oxígeno y captura radicales OH <sup>·</sup>	(Benítez, 2006)
Coenzima Q	Barrera fisiológica que enfrenta el O <sub>2</sub> a su paso desde aire a células.	(Venereo, 2002)
Vitamina C	Neutraliza al oxígeno	(Halliwell, 1990)
Bilirrubina	Inhibe peroxidación	(Otero et al., 2009)
Ácido úrico	Quelante	(Hernán et al., 2011)
Albúmina	Quelante	(Córdova et al., 2009)

**Tabla 6. Fuentes antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos**

Enzimáticos		
I. Grupo	Fuente de generación	Referencias
<b>Superóxido dismutasa (SOD)</b>	Mitocondria (Mn-SOD), Citosol (Cu-Zn.SOD).	(Céspedes et al., 1996)
<b>Catalasa (CAT)</b>	En eritrocitos	(Céspedes et al., 1996)
<b>Glutación peroxidasa (GPx)</b>	Citosol y membranas celulares	(Jones et al., 2000)
<b>Proteínas de unión a metales (GR)</b>	Ribosomas	(Reitter, 1995)
No Enzimáticos		
<b>Vitamina E</b>	Semillas, frutas y verduras.	(Mayor, 2010)
<b>Carotenoides</b>	Verduras y frutas amarillas y naranjas.	(Benítez, 2006)
<b>Coenzima Q</b>	Mitocondria	(Venereo, 2002)
<b>Vitamina C</b>	Semillas, frutas y verduras.	(Halliwell, 1990)
<b>Bilirrubina</b>	Metabolismo de grupos hemo	(Benítez, 2006)
<b>Ácido úrico</b>	Metabolismo de las purinas	(Hernán et al., 2011)
<b>Albúmina</b>	Plasma	(Córdova et al., 2009)
<b>Ácido tioctico</b>	Citosol, membranas celulares y plasma	(Diplok, 1991)

### 3.2.3 Enzima catalasa y su función como antioxidante

La catalasa, con estructura tetra hemínica (cuatro subunidades proteicas, cada una con un grupo hemo unido a su sitio activo), participa en la eliminación del peróxido de hidrógeno formado como producto de la actividad de enzimas oxidasas (por ejemplo, la xantina oxidasa). En su mecanismo de acción, la propia molécula de agua actúa como donante de electrones:



Esta importante enzima se encuentra en sangre, médula ósea, mucosas, riñón e hígado, pero su actividad se localiza básicamente en los peroxisomas, en donde cataliza la conversión del  $\text{H}_2\text{O}_2$  en muchos tejidos (Benítez, 2006), (Gonzalez, Betancourt y Ortiz, 2000). La función principal de la catalasa es degradar al peróxido de hidrógeno evitando así la formación de los radicales altamente reactivos como lo son el radical hidróxilo y oxígeno.

Hoy en día se reconocen tres grupos de catalasas: las catalasas monofuncionales, las Mn-catalasas y las catalasas peroxidasas que se encuentran en la mayoría de los organismos aeróbicos y que tienen un papel importante preventivo y de protección en procesos como la inflamación, las mutaciones, el envejecimiento y ciertos tipos de cáncer (Mora et al., 2009).

### 3.2.4 Terapia antioxidante

El tema de la terapia antioxidante es muy controvertido dentro de la comunidad científica y médica. La mayoría relaciona este término con la administración de formulaciones que contengan productos antioxidantes de forma única o complementaria en la terapia de una enfermedad específica (Núñez, 2011). Existen dos opiniones opuestas sobre el uso de antioxidantes en la terapia del cáncer. Una hipótesis propuesta por Prasad y col. (1999), en la cual los suplementos de antioxidantes junto con modificaciones de la dieta y el estilo de vida pueden mejorar la eficacia de terapias estándares y experimentales del cáncer, así como mejorar la calidad de vida al reducir o prevenir los efectos secundarios. Por otro lado, el argumento contra el uso de suplementos antioxidantes, ante la evidencia del efecto apoptótico de las ERO durante la quimioterapia, el cual puede verse disminuido por una dieta alta en AO. Teóricamente, los antioxidantes pueden ejercer sus efectos protegiendo a las células tumorales tanto como a las células sanas, reduciendo así la efectividad de la terapia citotóxica (Begoña *et al.*, 2013).

Según la Sociedad Americana contra el Cáncer (American Cancer Society), considera que lo más recomendable en el control del estrés oxidativo por reforzamiento de los sistemas antioxidantes para la prevención del cáncer, es incrementar el consumo de frutas y vegetales en la dieta, lo cual se ha asociado con una reducción del riesgo de enfermedades crónicas. (García, Saldaña y Saldaña, 2012).

### 3.2.5 Metabolitos secundarios en las plantas como fuente natural de antioxidantes

El hombre utiliza las plantas con propósitos medicinales desde tiempos prehistóricos y aún hoy tienen un papel clave en el mantenimiento de la salud de la mayor parte de la población mundial, pese a los avances de la medicina moderna (Carvajal *et al.*, 2009). Las plantas como fuente de antioxidantes se pueden utilizar para la preservación del valor nutritivo previniendo el deterioro oxidativo, entre los antioxidantes más importantes en los alimentos cabe destacar: vitamina C, carotenoides, vitamina E y en la actualidad los polifenoles. Una gran cantidad de estudios han establecido que los compuestos fenólicos de las plantas son antioxidantes potentes con efectos antimutagénicos y anticarcinogénicos (Martínez, 2007).

En los últimos años la capacidad antioxidante que presentan determinados polifenoles, especialmente flavonoides, presentes en diferentes vegetales ha cobrado gran interés científico, estas sustancias se forman a partir de la fenilalanina y la tirosina, combinados con unidades de acetato. La estructura química de los compuestos fenólicos, es la que les confiere su capacidad para actuar como captadores de radicales libres. El tipo de compuesto, el grado de metoxilación y el número de grupos hidroxilo son algunos de los parámetros que determinan esta actividad antioxidante (Valls, 2010). (Tabla 7).

**Tabla 7. Efectos clínicos de los flavonoides**

Efectos clínicos de los flavonoides	
<b>Antiinflamatorio</b>	-Disminuyen la inmovilización de leucocitos -Disminuyen la activación del complemento -Reducen los niveles de ciclooxigenasa
<b>Antitumoral</b>	-Protegen al DNA del daño oxidativo -Impiden la modificación de bases
<b>Antiaterogénico</b>	-Disminuyen el riesgo de enfermedades coronarias -Reducen los niveles de colesterol

Se considera que no todos los efectos son debidos a las vitaminas antioxidantes y flavonoides, sino que en los alimentos se encuentran otros compuestos que contribuyan de forma indirecta a la reducción de estas patologías (Valls, 2010).

### 3.3 Familia *Commelinaceae*

La familia Commelinaceae comprende 41 géneros y cerca de 650 especies. La mayor diversidad se encuentra en África y Madagascar con el 40% de las especies. Las Commelinaceas son encontradas en una variedad de hábitats principalmente en regiones tropicales y subtropicales y en un amplio rango de elevaciones (Smith *et al.*, 2004).

### 3.3.1 Descripción botánica

Plantas herbáceas perennes, perennes de vida corta o anuales, por lo común algo suculentas, acaules o con un tallo bien desarrollado, erectas, postradas, decumbentes o escandentes; raíces fibrosas y/o carnosas; hojas simples, alternas, enteras, paralelinervias, envainantes en la base, a menudo coloreadas con pigmentos rojizos o morados; inflorescencias terminales y/o axilares, cimosas, constituidas por cincinos helicoidales que llevan una a muchas flores, a veces tirsiformes o menos frecuentemente las flores solitarias o pareadas; flores actinomorfas a zigomorfas, bisexuales, hipóginas, efímeras y delicuescentes; cáliz y corola claramente distintos; sépalos 3(2), imbricados, libres o parcialmente unidos; pétalos 3(2), libres o unidos en la base, iguales o desiguales; estambres seis, a veces sólo tres o uno fértiles y los demás transformados en estaminodios o bien ausentes, filamentos frecuentemente barbados con pelos moniliformes, anteras biloculares; ovario súpero, tri - a bilocular, sésil, estilo simple, estigma terminal, pequeño y capitado, lobulado o penicilado; fruto capsular, loculicida, o raramente bacado o bacciforme y entonces indehisciente; semillas lisas o frecuentemente reticuladas o rugosas, provistas de un hilo punctiforme a linear y de un opérculo o embriotegio dorsal a lateral, y un endospermo farinoso.

Familia con alrededor de 40 a 45 géneros y cerca de 600 especies distribuidas en las regiones templadas y cálidas de ambos hemisferios. Algunos de sus taxa son de amplio uso como plantas ornamentales, principalmente por su follaje colorido y por su fácil propagación vegetativa. De México se conocen 118 especies nativas. (Espejo *et al.*, 2009).

### 3.3.2 Estudios químicos

Aunque la familia Commelinaceae es muy numerosa, se han realizado estudios fitoquímicos detallados que caracterizan metabolitos secundarios de sus géneros aunque algunos de estos no han sido objeto de investigación química como es el caso de *Tradescantia spathacea*.

Algunos géneros de esta familia son utilizados como planta de ornato, debido a los colores intensos que presentan en sus hojas y flores como es el caso de los géneros *Zebrina* y *Commelina*. Esto mismo ha sido motivo para que algunos investigadores estudiaran los pigmentos de estas especies, como es el caso de la investigación fitoquímica realizada a *Zebrina pendula*, de la cual se aislaron e identificaron algunos metabolitos contenidos en los pétalos de sus flores y que presentaron la estructura de 3-O-(6-O-(2,5-di-O-cafeil-L-Arabinofuranosil)- $\beta$ -D-Glucopiranosil)-3,7-di-O-(6-O-Cafeil- $\beta$ -D-Glucopiranosil) Cianina. (Idaka *et al.*, 1987).

En esta familia también se han identificado compuestos de tipo flavonoide como la isoflavacomelitina aislado de *Commelina communis*. (Kosaku *et al.*, 1996).

Uno de los géneros más estudiados por atribuirle propiedades medicinales es el género *Commelina*. Así, *Commelina undulata* y de esta planta lograron identificar los compuestos; 2-heneicosanona, n-octacosanol,  $\beta\beta$ -sitosterol,  $\beta$ -D-glucósido de sitosterol y un triterpeno caracterizado como acetato de dammar-12, 25-dieno. (Sharma y Tandan, 1982).



Se han realizado numerosos estudios a distintos géneros de la familia Commelinaceae, dentro de los que se encuentran *Zebrina pendula*, *Tradescantia spathacea* y *Setcreasea purpurea* y de estas plantas aislaron antocianinas acetiladas. El método de separación de estos pigmentos fue cromatografía líquida de alta eficiencia. (Idaka *et al.*, 1987).

### 3.3.3 Estudios farmacológicos

En la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia de Colombia se investigó la actividad antiviral y antitumoral de nueve especies de plantas medicinales de Colombia y dentro de estas, se encontraba *Callisia grasilis* de la familia Commelinaceae y encontraron que esta planta presentaba actividad antiherpética. (Galvis *et al.*, 1999).

Por estudio fitoquímico de la planta *Forrestia mollissima* se aisló del extracto de butanol un compuesto que mostró actividad depresiva en el sistema nervioso central. Este compuesto fue denominado ecdisterona. (Tandon *et al.*, 1982).

Las commelináceas en los trópicos tienen usos medicinales; el líquido extraído es usado para tratar infección de ojos, pero su eficacia no ha sido investigada. (Smith *et al.*, 2004).

En el Chocó (Colombia) *Zebrina péndula* se usa como antiveneno. En la medicina tradicional Zapoteca en Oaxaca (México), la especie es utilizada en el tratamiento empírico de erisipela, infecciones locales, dolor, edema, tumores y enfermedades inflamatorias. En México y Guatemala es empleada como antiinflamatorio (riñón y tracto urinario). Es utilizada principalmente por la población indígena de Guatemala y Venezuela para controlar los niveles de glucemia en el tratamiento de la diabetes mellitus y como diurético. (Ramírez *et al.*, 2013).

Un ensayo del efecto de *Zebrina péndula* en ratones normales y con diabetes experimental, concluyó que la administración aguda en ratones normales y en ratones con diabetes experimental (estreptozotocina) no produce hipoglicemia; por el contrario, se obtiene un incremento debido posiblemente a presencia de almidones y carbohidratos presentes en el extracto. (Ramírez *et al.*, 2013).

Dos fracciones obtenidas por cromatografía (esteroide y flavonoide), las cuales fueron administradas a ratas diabéticas (aloxano) durante 4 semanas, revelaron que la fracción esteroideal presenta una disminución estadísticamente significativa en la glicemia desde la primera semana. (Ramírez *et al.*, 2013).

### 3.4 Género *Tradescantia*

El género agrupa alrededor de 70 especies de regiones tropicales o subtropicales; zonas templadas y cálidas del Nuevo Mundo, desde Estados Unidos hasta Uruguay y el centro de Argentina. En México se distribuyen 42 de ellas. (Espejo *et al.*, 2009).

### 3.4.1 Descripción botánica

Plantas herbáceas perennes, perennes de vida corta o muy raramente anuales, erectas o postradas; raíces fibrosas o tuberosas; hojas de forma variable, con la vaina foliar más o menos diferenciada; inflorescencias terminales o axilares, constituidas por pares de cimbras sésiles o pedunculadas, generalmente asociadas a un par de brácteas basales, foliáceas o espatáceas; flores pediceladas, persistentes, actinomorfas; sépalos tres, libres, naviculares, persistentes, a veces petaloides o hialinos; pétalos tres, usualmente libres, unguiculados en la base, rara vez unidos en la base para formar un tubo delgado; estambres seis, todos fértiles y por lo general iguales, filamentos frecuentemente pubescentes, conectivo de las anteras engrosado; ovario trilocular, con dos óvulos por lóculo; cápsula dehiscente por tres valvas; semillas semipiramidales, por lo general rugoso-reticuladas, con el hilo central, linear o raramente punctiforme y el embriotequio dorsal o lateral (Espejo *et al.*, 2009).

### 3.5 *Tradescantia spathacea* Sw.

#### 3.5.1 Clasificación Taxonómica (Cronquist, 1988), (Sterwart y Ronthwell, 1993).

Reino: Plantae  
Subreino: Fanerógamas  
Subdivisión: Angiospermophytina  
Clase: Monocotiledónea (Liliopsida)  
Subclase: Commelinaceae  
Género: *Tradescantia*  
Especie: *spathacea*

#### 3.5.2 Sinónimos

*Rhoeo discolor* (L' Hér) Hance

*Rhoeo spathacea* (Sw.) Stearn.

*Tradescantia discolor* (Palacios y Barreda, 2000), (Rosales *et al.*, 2007).

#### 3.5.3 Nombres comunes

Maguey morado, arca de Noe, sangría, sanguinaria, tripa de pollo, barco, barquito, buquecito, canoa, flotilla de Gaitán, cordobán, almeja, amor y celos, seroncito, zapatillo, zapatón, zapatón del obispo, magueyito, señoritas embarcadas, lirio embarcado, tres hombres en un boté, Hierba del cáncer, barquilla, zopiloter, matlali. (Palacios y Barreda, 2000).

### 3.5.4 Descripción botánica

Planta herbácea de hojas lanceoladas, gruesas, suculentas, jugosas, acuminadas, sésiles de 20-25 cm de largo con 3.5 cm de ancho, imbricadas, lisas, de color morado – oscuras en el envés; tallo erecto o reclinado, de 20 cm de longitud, plano, pero ranurado, con una densa roseta; vaina de 4 cm de ancho; flores blancas con tres pétalos ovaladas de 5-8 mm de largo, densamente recostado en forma de barquilla, brácteas color púrpura, brotes en medio de la base de las hojas; semillas rugosas o ásperas de 3 mm de largo y de 1-1.5 mm de ancho (Figura 9) (Martínez, 1979).



Figura 9. Hojas y flores de *Tradescantia spathacea*.

### 3.5.5 Hábitat

Habita en climas cálidos y semicalidos desde el nivel del mar hasta los 1200 msnm. Planta cultivada en huertos familiares, asociada a bosques tropicales subperennifolio y perennifolio.

### 3.5.6 Distribución

Esta planta es originaria de América se da principalmente en Centroamérica y en regiones tropicales, crece también en México, las Antillas Mayores y en algunas Menores, en la Florida y Bahamas, Belice y es ampliamente cultivada en todo el mundo como planta ornamental. (Palacios y Barreda, 2000), (Hunt, 1996).

El rango de distribución del maguey morado incluye los estados de Campeche, Chiapas, Puebla, Tabasco, Yucatán, Quintana Roo y Veracruz (Figura 10) (Martínez, Gordillo y Guadarrama, 2011).



Figura 10. Distribución de *Tradescantia spathacea*.

### 3.5.7 Registros etnobotánicos

La *Rhoeo Spathacea* Sw. (Arca de Noé), es una planta utilizada en el interior de Guatemala para el tratamiento de la Diabetes Mellitus, enfermedad que se caracteriza por una alteración en el metabolismo de los carbohidratos. (Palacios y Barreda, 2000).

Las hojas recién recogidas y machacadas se utilizan como astringente. Se han empleado contra hemorragias en dolores menstruales y como antidiarreico, las hojas calentadas y colocadas sobre la cabeza se utilizan para la cefalea. Se reporta que la hoja por contacto puede desencadenar irritación. En Haití se usa para amenorrea y como abortivo. (Palacios y Barreda, 2000).

*T. spathacea* es una planta tradicionalmente utilizada como un alimento funcional en América del Sur, donde las hojas se hierven y se toman por vía oral en el día para el tratamiento del cáncer y la gonorrea. (Rosales *et al.*, 2007), (Joash, Yau y Sui, 2014), (Díaz, González y Gómez, 2008). También es ampliamente utilizada en la medicina tradicional en Tabasco, es usada para el tratamiento de heridas infectadas, pústulas, hinchazón, gangrena, para contrarrestar el efecto de la mordedura de serpiente y para acelerar la cicatrización.

Es también utilizado como infusión para contrarrestar la tos y problemas bronquiales. (Resendez, 1996). Se cree que la decocción de hoja es buena para aliviar el sangrado frío de la nariz. (Joash, Yau y Sui, 2014).

Esta planta ha demostrado poseer actividad antitumoral, antigenotóxica, antimutagénica, antioxidante y actividad antibacteriana. (Quoc *et al.*, 2015).

En el estado de Tabasco la población utiliza el polvo de las partes aéreas de esta hierba como un antiinflamatorio en el tratamiento de la artritis, también las hojas se hierven en agua para dar un líquido de color amarillento claro y una pequeña taza se bebe diaria para el tratamiento de la inflamación crónica. (Pérez, 1996).

En Puebla se utiliza para tratar el cáncer, también se ocupa contra disentería. En Chiapas se usa para llagas y heridas, la cocción de las hojas con la cual se lava tres veces al día o hasta que sana la zona afectada, según el atlas de las plantas medicinales utilizadas en la medicina tradicional de México. (Santiago, 1996).

### 3.5.8 Estudios Químicos

La planta contiene antocianinas (rhoeanina sólo descrita en esta planta) y  $\beta$ -D-glucosa, en un tamizaje fitoquímico de las hojas no se detectaron alcaloides, flavonoides, saponósidos y taninos, se han reportado varios aminoácidos en hojas de esta planta. (Palacios y Barreda, 2000).

Algunas sustancias químicas detectadas en *T. spathacea* son flavonoides, antocianinas, saponinas, carotenoides, ceras, terpenos y compuestos cumarínicos y esteroides. (Rosales *et al.*, 2007).

Las hojas contienen una antocianina primaria del tipo rhoenina, encontrada por espectrometría de masas por bombardeo atómico. (Joash, Yau y Sui, 2014).

En un ensayo bioguiado de las partes aéreas de *T. spathacea* encontraron dos nuevos compuestos, ( $\pm$ ) tradescantin y tradescantoside, junto con catorce compuestos conocidos incluyendo tres derivados de butirrolactona, nueve compuestos fenólicos, un flavonoide y un glucósido, que poseía efecto inhibitor hacia PTP1B. Estos resultados han puesto de manifiesto la utilización potencial de *T. spathacea* Sw. en el descubrimiento de inhibidores de PTP1B para el tratamiento de la diabetes tipo 2. (Quoc *et al.*, 2015).

El estudio químico y farmacológico a extractos hidroalcohólicos del maguey morado, dieron como resultado la presencia de flavonoides tipo quercetina. (Díaz, González y Gómez, 2008).

Por otro lado, por estudio fitoquímico de esta especie se descubrió la presencia de los compuestos cloruro de sodio, cloruro de potasio, ácido hexadecanoico, ácido 9, 12-octadecanoico, hidrocarburos saturados (ceras), carotenos y un compuesto importante de estructura cumarínica hidroxilada 4-(2,4-dihidroxi-fenil)-5-hidroxi-5H-furan-2-ona) que podría ser la responsable de la acción antiinflamatoria y bactericida. (Domínguez, 2002).

### 3.5.9 Estudios Farmacológicos

La infusión de las hojas de *R. Spathacea* Sw. (Arca de Noé) no tiene efectos tóxicos a dosis menor o igual a 5 g/Kg. de peso, además se observó que dosis de 750 mg/Kg. de peso producen disminución en la glicemia desde la segunda a la sexta hora, mientras que con dosis de 1000 mg/Kg. de peso la disminución en la glicemia inicia también en la segunda hora pero termina en la cuarta. Dosis de 1250 mg/Kg. de peso producen un aumento desde la primera hora hasta la quinta. (Palacios y Barreda, 2000).

La acción sedante de un extracto etanólico (80%) de las hojas ha sido investigada por apreciación de la actividad motora en ratas. A dosis de 1900 mg/Kg por vía intraperitoneal, encontrándole un efecto analgésico moderado pero significativo 30 y 60 minutos después de la administración, efecto que no parece ser dosis dependiente (Quoc *et al.*, 2015),<sup>34</sup>, para el jugo de esta planta se ha reportado un efecto estimulante uterino en ratas *in vitro*. (Palacios y Barreda, 2000).

El extracto etanólico al 95% de la planta entera seca administrada en el ratón por vía intraperitoneal tiene un efecto tóxico general a dosis de 400 mg/ Kg. (Palacios y Barreda, 2000).

El extracto crudo etanólico evaluado en un sistema *in vitro*, mostró actividad antimutagénica, antígeno tóxica y antioxidantes. (Rosales *et al.*, 2007).

Se ha demostrado un efecto benéfico del extracto acuoso de *T. spathacea* evitando lesiones hepáticas preneoplásicas inducidas por un tratamiento carcinogénico. (Rosales *et al.*, 2007).

Extractos etanólicos de *Roboe spathacea* demuestran propiedades antiartríticas y antiinflamatorias significativas. Además de inhibir la artritis inducida por formaldehído (52, 04 y 44, 89 % respectivamente) en la etapa temprana (Pérez, 1996).

En la evaluación farmacológica de la actividad antiinflamatoria se encontró que el extracto hidroalcohólico de maguey morado presenta porcentajes mayores al 70 % de inhibición en el modelo de inflamación inducido por TPA, comparado con la dexametasona (78.92%). (Díaz, González y Gómez, 2008).

Se sabe que los extractos etanólicos tienen efectos anticonceptivos y recientemente se informó el uso de un extracto crudo etanólico para el tratamiento de la micosis superficial. El extracto crudo etanólico de *T. spathacea* tiene propiedades antioxidantes, antimutagénicas y genoprotectivas, de acuerdo a resultados obtenidos en el ensayo de Ames, por método de radicales libres DPPH de eliminación y de cultivos de células hepáticas. (González *et al*, 2003).

El extracto hidroalcohólico (80 %) de la hoja (obtenido por percolación y desgrasado con éter de petróleo) por vía intraperitoneal (1900 mg/kg) a rata, provocó efecto sedante significativo a los 30 y 60 minutos. El efecto se evaluó a través de la actividad motora por medición de los desplazamientos horizontales con un equipo Varimex. (Palacios y Barreda, 2000).

### 3.6 Metabolitos secundarios

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o para degradar las complejas y obtener las simples (Ávalos y Pérez, 2009).

Las plantas, al igual que los animales, los hongos, las algas y las bacterias realizan funciones fisiológicas en las que están implicadas rutas metabólicas, como lo son la respiración y la síntesis de proteínas que son esenciales para mantener la vida (Taiz y Zeiger, 2006). Las plantas tienen la capacidad de llevar otra función metabólica igualmente esencial, la fotosíntesis, por la cual se generan compuestos derivados de una serie de reacciones que sintetizan una compleja gama de sustancias; a dichas sustancias se les denomina principios activos, los cuales se encuentran en distintos órganos de la planta y alteran el funcionamiento de órganos y sistemas del cuerpo humano (Segler, 2001). Estas sustancias se clasifican en grupos, según su estructura química; a los productos resultantes de los procesos químicos que intervienen de forma directa en la supervivencia, crecimiento y reproducción de la planta se les denomina metabolitos primarios. A los productos que no son esenciales para el metabolismo de la planta y que son sintetizados como defensa o adaptación se les conoce como metabolitos secundarios, los cuales son los más importantes principios bioactivos desde el punto de vista científico, presentan propiedades biológicas, muchos desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros. (Bruneton, 2008), (Ávalos y Pérez, 2009).



Dentro de los metabolitos secundarios con mayor relevancia por su actividad biológica encontramos a los alcaloides, cumarinas, esteroides y triterpenos, flavonoides, glicosidos cardiotónicos, lactonas sesquiterpénicas, quinonas, saponinas, taninos, entre otros, que presentan gran interés para la industria farmacéutica (Kliebenstein, 2004).

**Tabla 8. Propiedades biológicas de los metabolitos secundarios.**

Metabolitos secundarios	Características	Propiedades biológicas
<b>Alcaloides</b>	<p>Grupo más grande en plantas.</p> <p>Pueden encontrarse en hojas, en flores, en frutos, en semillas, en corteza y en la raíz; en estado libre como glicósidos o formando sales con ácidos orgánicos (Arango, 2008).</p> <p>Se consideran como: “Compuestos orgánicos de origen natural, derivados generalmente de aminoácidos, de carácter más o menos básico (Maldoni, 1991).</p>	<p>Grupo de mayor interés en la farmacognosia.</p> <p>Propiedades anestésicas, analgésicas, sedantes, antisépticas que ejercen su actividad sobre el sistema nervioso central excitándolo o deprimiéndolo (Maldoni, 1991).</p>
<b>Glicosidos cardiotónicos</b>	<p>Sustancias constituidas de una porción esteroide, una porción glicosídica y un anillo de <math>\gamma</math>-lactona <math>\alpha</math>, <math>\beta</math>-insaturada o <math>\delta</math>-lactona-<math>\alpha</math>,<math>\beta</math>-insaturada (Martínez, 2002. Su distribución natural se encuentra principalmente en hojas de plantas de las familias: Scrophulariaceae, Apocynaceae, Liliaceae, Ranunculaceae y Moraceae (Martínez, 2002).</p>	<p>Actúan sobre el músculo cardíaco y por tanto se utilizan como medicamentos contra la insuficiencia cardíaca, presentan acción tónica y fortalecedora del corazón, además de su potencial anticancerígeno (Martínez, 2002).</p>
<b>Esteroides y triterpenos libres</b>	<p>Los terpenoides están formados por la unión de un número entero de unidades de isopropeno (<math>C_5</math>). Según este número se clasifican en: monoterpenos (<math>C_{10}</math>), sesquiterpenos (<math>C_{15}</math>), diterpenos (<math>C_{20}</math>), Triterpenos (<math>C_{30}</math>), carotenos (<math>C_{40}</math>), politerpenos (<math>C_n</math>). (Bruneton, 2008).</p>	<p>Presentan propiedades antiinflamatorias, antihipertensivas y antioxidantes (Bruneton, 2008).</p>
<b>Flavonoides</b>	<p>Clase de compuestos polifenólicos de amplia distribución en el reino vegetal.</p> <p>De bajo peso molecular derivados de la unión de tres anillos (A, B, C) dos de ellos aromáticos (Escamilla et al., 2009).</p>	<p>Los flavonoides presentan actividades como: espasmolítica (glicosidos de arpigénina), antihepatóxica (silimarina de Sylybum), colerética, estrógena, diurética y antioxidante, esta última resulta de una combinación de sus propiedades quelantes de hierro y sequestradoras de RL (Martínez et al., 2002).</p>



<p><b>Taninos</b></p>	<p>Compuestos químicos no cristalizables que forman con el agua soluciones coloidales, de reacción ácida.</p> <p>Precipitan las proteínas en solución y se combinan con ellas haciéndolas resistentes a las enzimas proteolíticas. Se dividen en: hidrolizables o no hidrolizables o catéquicos (Van Ginkel, 2003).</p>	<p>Se emplean como astringentes del extracto gastrointestinal y de las escoriaciones de la piel.</p> <p>En el tratamiento de las quemaduras las proteínas de los tejidos expuestos precipitan y forman una capa protectora antiséptica bajo la cual tiene lugar a la regeneración de los tejidos.</p> <p>Además presenta propiedades antibacterianas y antiinflamatorias (Ávalos et al., 2009).</p>
<p><b>Saponinas</b></p>	<p>al grupo de glicósidos esteroides con núcleo espirostanos que tienen la propiedad de hemolizar glóbulos rojos y de disolverse en agua disminuyendo la tensión superficial, y las drogas que los contienen suelen ser estornudatorios e irritantes de la mucosa (Martínez, 2001).</p>	<p>Presentan propiedades expectorantes; a dosis altas son irritantes y hemolíticos por su uso interno; también son muy utilizadas como coadyuvantes de la acción de otras plantas, ya que facilitan la absorción de los principios activos incrementando su eficacia (Ávalos y Pérez, 2009).</p>
<p><b>Quinonas</b></p>	<p>Se dividen en benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas y quinonas isoprenoides.</p> <p>Son sintetizados por la ruta de los poliacetatos, que a su vez pueden contener diversos grupos funcionales, anillos de furano/pirano o encontrarse como dímeros que pueden ser parcialmente reducidos como los antrales y antronas (Bruneton, 2008).</p>	<p>Además de las propiedades tintóreas de las naftoquinonas y antraquinonas, se han descrito importantes actividades biológicas destacando como agentes antiparasitarios, antibacterianos, antifúngicos y anticancerígenos (Thomson, 1957).</p>
<p><b>Cumarinas</b></p>	<p>Consideradas estructuralmente como derivados lactónicos del ácido o-hidroxicinámico, se caracterizan por poseer una variedad de patrones de oxigenación sobre el núcleo de la benzopirona, siendo la oxigenación en C-7 la más común entre las cumarinas naturales (Arango, 2010).</p>	<p>Presentan un amplio rango de actividad biológica, como acción anticoagulante y antibacteriana, acción antibiótica, anticarcinogénica, actividad astrogénica, acción fotosensibilizadora de furanocumarinas y acción insecticida. (Lacy et al., 2004).</p>

#### IV. JUSTIFICACIÓN

El cáncer es una de las causas principales de muerte en el mundo. El último Informe Mundial del Cáncer de la Organización Mundial de la Salud (OMS) informa que en 2012 se registraron 8,2 millones de nuevos casos. Esta patología es la segunda causa de muerte en México con más de 128, 000 casos al año y según estimaciones de la Unión Internacional contra el Cáncer (UICC, 2014), cada año se suman alrededor de 148, 000 nuevos casos, de los cuales el 53.2 % fallecen por esa patología. De acuerdo con el reporte denominado "Al día: las cifras hablan, Día Mundial contra el Cáncer" realizado por la Dirección General de Análisis Legislativo, el 44.3 % de los nuevos casos que se detectan de cáncer en nuestro país afectan a la población masculina y 55.7% a la femenina. Además, el 60 % de los casos de cáncer en México se detectan en etapas avanzadas, lo que aumentan las probabilidades de muerte.

Hoy en día se tiene conocimiento de diversos factores que ocasionan esta enfermedad, despertando gran interés en el estrés oxidativo, definiéndolo como el continuo desbalance entre especies reactivas y el sistema antioxidante. Aunque diversos estudios han corroborado la participación del estrés oxidativo en la carcinogénesis y han descifrado parte de la bioquímica del proceso, aún no se conoce un tratamiento para tratar esta enfermedad de manera selectiva.

Las terapias utilizadas en cáncer (radioterapia, quimioterapia) presentan efectos colaterales y son poco específicas al no reconocer de manera selectiva células normales de células cancerígenas, por tanto el estudio de especies vegetales como principal fuente de sustancias bioactivas y con capacidad para incidir en el proceso carcinogénico, a través de la modulación del estrés oxidativo, permite vislumbrar la posibilidad de utilizar terapias alternativas para este padecimiento. Ante esta situación el presente estudio realizado en extractos de hoja de *Tradescantia spathacea* se enfoca al efecto antioxidante que pueda ejercer esta especie en dicho proceso.

#### V. HIPOTESIS

Los extractos acuosos de hoja de *Tradescantia spathacea* modularán el potencial redox durante el proceso carcinogénico en el sistema, debido a la presencia de sustancias bioactivas capaces de estimular la respuesta antioxidante.

## VI. OBJETIVOS

### General

Evaluar el potencial antioxidante de *Tradescantia spathacea* en ratones hembra, cepa CD-1 inducidos a un proceso carcinogénico con óxido de níquel.

### Específicos

- 6.1 Registrar información etnofarmacológica de *T. spathacea*.
- 6.2 Identificar presencia de metabolitos secundarios en extractos acuosos e hidroalcohólicos de hojas de *Tradescantia spathacea*.
- 6.3 Inducir un proceso carcinogénico a ratones hembra cepa CD-1 con una dosis de 20 mg/kg de óxido de níquel.
- 6.4 Evaluar el efecto de extractos acuosos de *Tradescantia spathacea* sobre la actividad de la enzima catalasa en hígado y plasma de ratón.
- 6.5 Conocer la concentración de nitritos y malonil-dialdehído en hígado y plasma de ratón.

## VII. MÉTODO

### 7.1 Localidad de colecta

La colecta del material vegetal se realizó el 16 de Agosto de 2014 en el Estado de Veracruz, comunidad “Limón chiquito”, Cazonces de Herrera (20° 40' 44.4" N, 97° 16' 43.5" O) a 15 msnm. Se prepararon ejemplares de herbario y la identificación de la muestra botánica se hizo con apoyo de taxónomos del Herbario Nacional de México (MEXU).



Figura 11. *Tradescantia spathacea* en el lugar de colecta

## 7.2 Recopilación de información etnofarmacológica

Se diseñó un formulario de encuesta etnofarmacológica (Anexo 1), utilizando la metodología TRAMIL de Robineau 1986, que fue aplicada a la muestra poblacional, mediante la cual se entrevistaron a 34 personas, donde participaron hombres y mujeres adultos, ancianos y algunos jóvenes, con conocimiento de la especie, esto con la finalidad de captar la información referente a usos, nombres comunes, las partes y dosis utilizadas, métodos de preparación terapéutica y posibles efectos adversos.

La información etnobotánica de *T. spathacea* fue utilizada como referencia en el transcurso del proyecto y de esta forma ayudar a fomentar una mejor utilidad de la especie, ya que es una comunidad de bajos recursos, donde la población actualmente utiliza plantas medicinales para atender sus enfermedades.

## 7.3 Obtención de extractos

Se elaboraron 4 extractos a partir de hojas de *Tradescantia spathacea*. De acuerdo a la entrevista etnobotánica la población de Limón Chiquito, Cazonas Veracruz, utiliza 17 g de hojas de *Tradescantia spathacea* en 250 ml de agua en forma de té. A partir de esto se prepararon los extractos acuosos del experimento.

### 7.3.1 Preparación del extracto acuoso 1

100 g de hoja fresca previamente macerada en un molino de mano fueron sometidos a un cocimiento a fuego lento hasta el primer hervor, en un volumen de 1470.7 ml de agua destilada, la disolución fue filtrada con una gasa y conservada en frasco ámbar a 4° C. Posteriormente se concentró en cristalizadores a temperatura ambiente en una campana de extracción.

### 7.3.2 Preparación del extracto acuoso 2

68 g de hoja fresca previamente macerada en un molino de mano fueron sometidos a un cocimiento a fuego lento hirviendo por 10 minutos, en un volumen de 1000 ml de agua destilada, la disolución fue filtrada con una gasa y conservada en frasco ámbar a 4° C. Posteriormente se concentró en cristalizadores a temperatura ambiente en una campana de extracción.

### 7.3.3 Preparación del extracto hidroalcohólico

100 g de hoja fresca previamente macerada en un molino de mano, fueron colocados en 500 ml de una solución etanol-agua (70:30) y preservados en frascos ámbar durante un mes. Posteriormente el extracto se filtró al vacío (Papel Whatman No.1) y se concentró en cristalizadores a temperatura ambiente en una campana de extracción.

## 7.4 Identificación de metabolitos secundarios

Se realizó un análisis fitoquímico preliminar con el fin de determinar cualitativamente los diversos metabolitos secundarios presentes en cada extracto de hojas de *Tradescantia spathacea*. Aplicando reacciones de color (Anexo 12.2).

De cada extracto se realizaron pruebas para la identificación cualitativa de:

### 7.4.1 Alcaloides

La mayoría de los alcaloides, con excepción de los alcaloides de amonio cuaternario y N óxidos de amina, son solubles en solventes orgánicos poco polares, como cloroformo y mezclas de éste, pero pueden formar sales solubles en agua en presencia de ácidos minerales diluidos, como el ácido clorhídrico al 5% en agua.

Para su identificación se realizan pruebas de precipitación en medio ácido, utilizando para ello sales de metales pesados como el ioduro de potasio y mercurio (reactivo de Mayer). (Carvajal *et al*, 2009).

### 7.4.2 Glicósidos cardiotónicos

Son sustancias constituidas de una porción esteroide, una porción glucosídica y un anillo de lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada o  $\delta$ -lactona- $\alpha,\beta$ - insaturada.

Se pueden reconocer mediante ensayos de coloración con el reactivo de Keller-Killiani; para el núcleo esteroideal se utiliza el reactivo Lieberman-Burchard y para la identificación de la lactona se utiliza el reactivo de Baljet. (Carvajal *et al*, 2009).

### 7.4.3 Esteroides y triterpenos libres

Para su análisis preliminar en plantas la prueba más comúnmente utilizada es la de Lieberman-Burchard. Se considera resultado positivo si bajo estas condiciones aparecen manchas en cualquier tonalidad del rojo, azul o verde. (Carvajal *et al*, 2009).

### 7.4.4 Flavonoides

Para su detección se emplea principalmente la reacción de la cianidina, conocida también como reacción de Shinoda, si se observa la aparición de coloración rojiza, violeta o naranja, se considera positivo para compuestos con el núcleo de la  $\gamma$ -benzopirona (flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, isoflavonoides y xantonas). También existe otro tipo de flavonoides denominados leuco-antocianidinas, las cuales por cambio en el pH se tornan de incoloras a intensamente coloreadas de rojo (Carvajal *et al*, 2009).

#### 7.4.5 Taninos

Estos polifenoles tienen la propiedad de unirse a las proteínas y precipitarlas. Por esta razón, la prueba más empleada para la detección de este grupo de metabolitos secundarios emplea el reactivo de gelatina-sal, el cual produce un precipitado blanco en presencia de taninos. Estos precipitados formados como consecuencia de la presencia de taninos deben ser solubles en urea 10 M y producir coloraciones verdes, azules o negras tras la adición de cloruro férrico en agua. (Carvajal *et al*, 2009).

#### 7.4.6 Saponinas

Las Saponinas, son glicósidos esteroides con un núcleo espirostanos que tienen la propiedad de hemolizar los glóbulos rojos y forman espuma abundante y estable al agitar sus soluciones acuosas. Debido a sus características estructurales, para su identificación se utiliza el ensayo de espuma y técnica de hemólisis. Otra prueba para la identificación de saponinas es el reactivo Rosenthaler (Carvajal *et al*, 2009).

#### 7.4.7 Naftoquinonas y antraquinonas

Para la detección de este tipo de metabolitos secundarios se empleó la reacción de Bornträger-Kraus. Para ello, al extracto se le adiciona peróxido de hidrógeno y ácido sulfúrico y se procede a calentar; bajo estas drásticas condiciones, se hidrolizan los enlaces glicosídicos y se oxidan las antronas y los antranoles hasta antraquinonas, las cuales son extraídas con tolueno y agitadas en presencia de una solución de hidróxido de sodio al 5% que contiene hidróxido de amonio al 2%. En caso de presencia de nafto o antraquinonas, al dejar separar las fases la capa alcalina (inferior) toma una coloración que va del rosado al rojo intenso, dependiendo de la concentración de estos compuestos en la muestra. (Carvajal *et al*, 2009).

#### 7.4.8 Cumarinas

Las Cumarinas, son consideradas estructuralmente como derivados lactónicos del ácido o hidrox-Z-cinámico. Se caracterizan por poseer una variedad de patrones de oxigenación sobre el núcleo de la benzopirona estos compuestos exhiben una fuerte fluorescencia azul o verde al ser irradiadas con luz UV (254-365) (Carvajal *et al*, 2009).

### 7.5 Modelo experimental

El modelo experimental es representado por 60 ratones hembra de la cepa CD-1 del bioterio FES Zaragoza, UNAM, los cuales serán clasificados en 6 grupos experimentales (Tabla 9). Y se evaluará la actividad biológica antioxidante de cada extracto acuoso.

### 7.5.1 Inducción de carcinomas por óxido de níquel

El Óxido de Níquel (II) es el compuesto con la fórmula química de NiO. Se clasifica como una base de óxido de metal. Es también conocido como óxido de níquel verde y puede causar cáncer. Investigaciones epidemiológicas y estudios experimentales en animales de laboratorio destinados a detectar las propiedades cancerígenas de los diferentes compuestos de níquel demostraron que son potentes cancerígenos.

Se administró una única dosis intramuscular de 20 mg/kg de NiO (Método estandarizado por Ortiz et al., 1994), utilizando como vehículo aceite de olivo (Sigma, grado RA).

La inducción de carcinoma fue realizada el 03/11/14, manteniendo a los organismos en condiciones de Bioterio hasta el momento de sacrificio.

**Tabla 9. Modelo experimental**

Grupo experimental	
Grupo 1. Control positivo	_____
Grupo 2. Control negativo	NiO (óxido de níquel)
Grupo 3. Vehículo	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub> (aceite de oliva)
Grupo 4. Tratamiento 1	NiO + extracto acuoso <i>T. spathacea</i> 1
Grupo 5. Tratamiento 2	NiO + extracto acuoso <i>T. spathacea</i> 2
Grupo 6. Tratamiento 3	NiO + Té de hoja de <i>T. spathacea</i> (preparado cada día de tratamiento).

### 7.5.2 Tratamiento con extractos acuosos

El tratamiento de cada extracto acuoso se diseñó tomando una dosis letal 50 (DL50) de 5 g/kg (Tabla 10) (Palacios y Barreda, 2000).

Para cada grupo experimental en tratamiento se diseñó una dosis (Tabla 10), la cual se suministró de forma oral a cada ratón (25 µl por día), en un periodo de 15 días, tres meses después de la inducción de NiO.

**Tabla 10. Dosis de cada extracto de hoja de *Tradescantia spathacea*.**

Grupo experimental	Dosis
<b>Grupo 4. Tratamiento 1</b>	13.9 mg de extracto seco en 7.5 mL de agua
<b>Grupo 5. Tratamiento 2</b>	26.4 mg de extracto seco en 7.5 mL de agua
<b>Grupo 6. Tratamiento 3</b>	68 mg de hoja de <i>T. spathacea</i> en 10 mL de agua

### 7.5.3 Obtención de plasma y homogenado de hígado

Los grupos experimentales fueron sacrificados por decapitación (27/02/15), la sangre obtenida se colectó en tubos con EDTA, los cuales fueron centrifugados a 5000 rpm durante 5 min, preservando las muestras a una temperatura de 4°C hasta el momento de su análisis.

Se extirpo el hígado a los organismos sacrificados, cada hígado fue sometido a lavado y perfusión con solución fisiológica de NaCl al 0.9%, Posteriormente fue macerado en medio de homogenización (100 ml por cada 20g de hígado) y filtrado con embudo y gasa simple en tubos cónicos, para ser centrifugado a 2000 rpm durante 10 minutos, preservando las muestras a una temperatura de 4°C hasta el momento de su análisis.

Se procedió a una observación macroscópica de todos los órganos y cavidades de los organismos sacrificados. En aquellos que presentaban una metástasis tumoral, se extirpó dicha masa tumoral y se fijó utilizando formol al 10%, así como la Solución de Bouin (Anexo 3).

Cabe aclarar que durante la investigación se siguieron las normas establecidas por la Ley Mexicana de Protección Animal para el Uso de Animales de Experimentación (NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones Técnicas para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio).

### 7.6 Evaluación de actividad antioxidante

Los niveles de estrés oxidativo de los grupos experimentales se evaluarán en plasma y en homogenizado de hígado, utilizando 3 marcadores de estrés oxidativo:

- Actividad enzimática de catalasa (método de Chance y Machley).
- Cuantificación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (método de TBARS).
- Cuantificación de óxido nítrico (método de Griess Saltzman).

Y utilizando como parámetro la cuantificación de proteínas totales (método de Biuret).



### 7.6.1 Cuantificación de proteína total por método de Biuret.

La presencia de proteínas en una mezcla se puede determinar mediante la reacción del Biuret. El reactivo de Biuret contiene sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) en medio alcalino (hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ), tartrato de sodio potasio o hidróxido de potasio ( $\text{KOH}$ )).

La reacción se basa en la formación de un compuesto de color violeta, debido a la formación de un complejo de coordinación entre los iones cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) y los pares de electrones no compartidos del nitrógeno que forma parte de los enlaces peptídicos presentando un máximo de absorción a 540 nm (Gutiérrez y Hernández, 2011).

La reacción debe su nombre al Biuret, una molécula formada a partir de dos de urea ( $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CO}-\text{NH}_2$ ), que es la más sencilla que da positiva esta reacción, común a todos los compuestos que tengan dos o más enlaces peptídicos consecutivos en sus moléculas (Gutiérrez y Hernández, 2011).

Preparación del Reactivo de Biuret 1L. Disolver 1.50 g de Sulfato de cobre pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ ) y 6.0 g de Tartrato de sodio-potasio ( $\text{NaKC}_4\text{O}_6 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ ) en 500 mL de agua desionizada. Adicionar 300 mL de Hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ) al 10 %, aforar a 1L (Gutiérrez y Hernández, 2011).

### 7.6.2 Cuantificación de óxido nítrico por método Griess Saltzman

Para determinar la concentración de nitrito se utiliza la reacción de Griess, que detecta específicamente nitrito y no nitrato, en una gran variedad de líquidos biológicos y experimentales, entre los que se encuentra el plasma, suero, orina y medios de cultivo celular.

El reactivo de Griess se prepara mezclando una solución de N-1-(naftil) etilendiamina dihidrocloruro (0,1% p/v en 5% de HCl) con una solución de sulfanilamida (2% p/v en 5% HCl). Ambas soluciones son estables por varios meses a 4 °C protegidas de la luz; éstas se mezclan inmediatamente antes de realizar la reacción colorimétrica (Adarmes *et al.*, 2009).

La reacción colorimétrica se obtiene agregando al homogenado de hígado y al plasma, el reactivo de Griess y agua destilada, estableciéndose su absorbancia a 540 nm. Se basa en la formación de un cromóforo por la reacción de sulfanilamida con nitrito en medio ácido, seguido de un acoplamiento con aminas bicíclicas tales como el N-1-(naftil) etilendiamina dihidrocloruro (Adarmes *et al.*, 2009).

### 7.6.3 Actividad de Catalasa por Método de Chance y Machley

Se basa en el principio de que la catalasa es capaz de reducir  $H_2O_2$  en una molécula de agua y media molécula de oxígeno.

La actividad catalasa se determina según Chance y Machley. Se mide la descomposición del peróxido de hidrogeno a 240 nm, 37°C en una solución tampón de fosfato de sodio 20 mM, pH 7.0 (Díaz *et al.*, 2010).

### 7.6.4 Cuantificación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Uno de los índices más frecuentemente utilizados para estimar el daño oxidativo a lípidos es la determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), producto final de la peroxidación lipídica (Fassiano, Ortiz y Ríos, 2012). Este procedimiento mide el malondialdehído (MDA) formado como producto principal de la degradación de hidroperóxidos generados por la oxidación de lípidos. Producto de color rosa que puede ser medido espectrofotométricamente a 532-535 nm. Como producto final de la peroxidación lipídica predomina el malondialdehído, principal sustrato de esta reacción, el MDA reacciona con el ácido tiobarbutúrico (TBA). (Sánchez *et al.*, 2008).

Esta técnica se fundamenta en un procedimiento que comprende una etapa de precipitación proteica, durante la cual se incorpora el ácido tiobarbitúrico que produce una reacción directa con la fracción de malondialdehído presente en el suero.

### 7.7 Análisis Estadístico

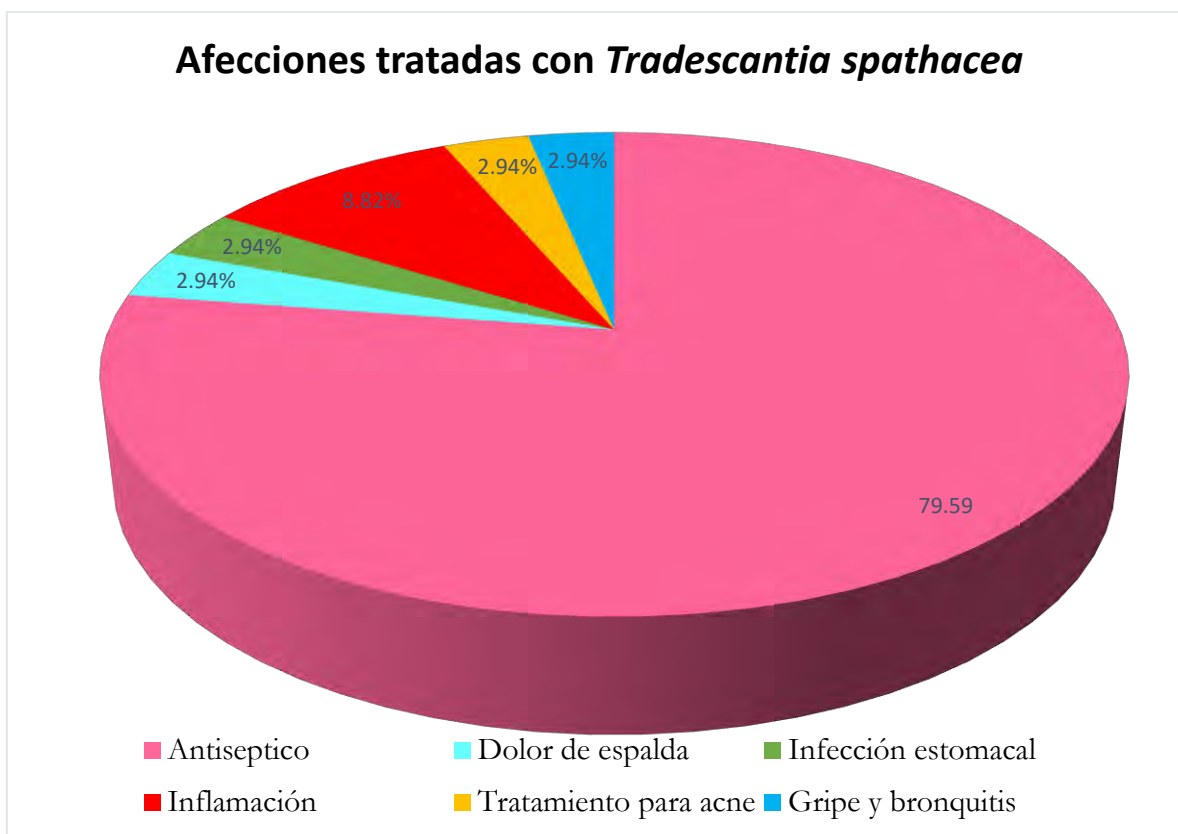
Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA), utilizando el programa SPSS Statistics, seguido de la prueba post hoc de Tukey, y sólo los valores de  $P > 0.05$  se consideraron estadísticamente significativos.

## VIII. RESULTADOS

### 8.1 Registro etnofarmacológico de *Tradescantia spathacea*.

Se realizó un registro etnofarmacológico que consistió en una entrevista directa a habitantes de la comunidad “Limón chiquito”. El estudio constó de un total de 34 entrevistas, de las cuales el 76.47% corresponden al sexo femenino y el 23.53% al sexo masculino, se infiere que la comunidad femenina está mayormente implicada en el uso de plantas medicinales o bien tienen más conocimiento de ellas, por ser damas de hogar y responsables de curar enfermedades de atención primaria en su familia. El rango de edad de los entrevistados oscila entre los 24 a 75 años, agrupados de 20 a 39 años con 20.59%, de 40 a 59 años con 41.18% y de 60 a 79 años con 38.23%.

El 79.59% de los entrevistados utilizan la planta como antiséptico en la prevención de infecciones y el 2.94% para contrarrestar la gripe y bronquitis, mientras que el porcentaje restante la utiliza en tratamientos de dolor de espalda, infección estomacal, inflamación y acné (Gráfica1).



**Gráfica 1. Porcentaje e incidencia de uso de *Tradescantia spathacea*.**

De acuerdo a las entrevistas, la hoja de *Tradescantia spathacea* es la única estructura utilizada, y la forma de administración más empleada es el té, realizando un cocimiento de aproximadamente 17g de hoja en 250 ml de agua, durante un periodo de tiempo desde 3 días hasta 1 mes. En la Tabla 11 se describen los resultados reportados en las entrevistas y en la Tabla 12 se muestra el resumen del registro etnofarmacológico.

**Tabla 11. Usos medicinales de *T. spathacea* reportados en las entrevistas.**

Uso medicinal	Parte de la planta utilizada	Forma de preparación	Forma de administración
Antiséptico	Hoja	Cocimiento Asado	Té Cataplasma
Dolor de espalda	Hoja	Cocimiento	Té
Infección estomacal	Hoja	Cocimiento	Té
Antiinflamatorio	Hoja	Asado Cocimiento	Cataplasma Té
Tratamiento para acné	Hoja	Asado	Cataplasma
Gripe y bronquitis	Hoja	Cocimiento	Agua de tiempo

**Tabla 12. Resumen del uso de *T. spathacea* según el registro etnofarmacológico.**

Nombre común: Barquilla	
<b>Rango de edad de la población</b>	24 - 75 años
<b>Uso</b>	medicinal
<b>Forma de preparación</b>	cocimiento, asado y agua de tiempo
<b>Dosis</b>	hoja: aprox. 17g/250 ml de agua
<b>Frecuencia de uso</b>	3 días a 1 mes

En la tabla 13 se representa a *T. spathacea* utilizada con otras plantas medicinales para aumentar o presentar la actividad biológica deseada, tales plantas son: *Plantago major*, *Hamelia patens* y *Struthanthus crassipes*, en la comunidad conocidas como “Llantén” “Chacloco” y “Secapalo” respectivamente, información que no está documentada en las citas bibliográficas.

**Tabla 13. Plantas utilizadas con *Tradescantia spathacea*.**

Uso medicinal	Estructura utilizada de <i>T. spathacea</i>	Planta combinada	Forma de Preparación
Dolor de espalda	Hoja	Llantén	Cocimiento para té
Infección estomacal	Hoja	Llantén	Cocimiento para té
Antiséptico	Hoja	Chacloco	Cocimiento para té
Antiséptico	Hoja	Secapalo	Cocimiento para té

### 8.2 Rendimiento de extracción de *Tradescantia spathacea*.

El rendimiento de extracción se determinó utilizando la siguiente formula:

$$\% R = \frac{EO (g)}{TMV (g)} * 100$$

En donde por cada 100 g de material vegetal en las diferentes condiciones de extracción, R es el rendimiento, EO es el extracto obtenido y TMV es el total de muestra vegetal. (Tolosa y Cañizares, 2002). En la tabla 14 se muestran los resultados de rendimiento de cada extracto de hoja, presentando un mayor rendimiento de extracción en el extracto etanol-agua (70:30).

**Tabla 14. Rendimiento de extracción de *Tradescantia spathacea*.**

Solvente de extracción	Duración del proceso de extracción	Extracto	Rendimiento
<b>Etanol-agua (70:30)</b>	1 mes	Hidroalcohólico	1.66%
<b>Agua</b>	Cocimiento por 5 minutos posteriores a la ebullición	Acuoso 1	0.42 %
<b>Agua</b>	Cocimiento por 10 minutos posteriores a la ebullición	Acuoso 2	1.59 %

### 8.3 Análisis fitoquímico preliminar de *Tradescantia spathacea*.

Los metabolitos secundarios son compuestos derivados del metabolismo primario pero de limitada distribución en el reino de las plantas, las sustancias secundarias se producen con funciones relativas inespecíficas, poseen altos rendimientos y tienen múltiples funciones en las plantas. (Shilpa, Varun y Lakshmi, 2010).

En este estudio se realizó la identificación de metabolitos secundarios en 3 extractos de hojas de *T. spathacea*: 2 extractos acuosos y 1 extracto hidroalcohólico, los cuales fueron analizados mediante una serie de reacciones específicas para identificar metabolitos secundarios.

En las tablas 15 y 16 se pueden observar los resultados del análisis de los extractos acuosos de *Tradescantia spathacea*, se observa que es el extracto acuoso II donde fue detectada una mayor cantidad de metabolitos secundarios, tales como: alcaloides, flavonoides, taninos, y cumarinas, mientras que en el extracto acuoso I sólo se detectó presencia de alcaloides y taninos.

**Tabla 15. Análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso I de hoja de *T. spathacea*.**

Metabolito secundario	Ensayo	Extracto Acuoso I
Alcaloides	Mayer y Dragendorf	+++
Glicósicos cardiotónicos	Keller-Killiani Lieberman-Burchard Baljet	-
Esteroides y triterpenos libres	Lieberman-Burchard	-
Flavonoides	Shinoda	-
Taninos	Gelatina sal	+++
Saponinas	Espuma Rosenthaler	-
Naftoquinonas y antroquinonas	Bornträger-Kraus	-
Cumarinas	Fluorescencia	-

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

**Tabla 16. Análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso II de hoja de *T. spathacea*.**

Metabolito secundario	Ensayo	Extracto Acuoso II
<i>Hoja Tradescantia spathacea</i>		
Alcaloides	Mayer y Dragendorf	+++
Glicósicos cardiotónicos	Keller-Killiani	-
	Lieberman-Burchard	-
	Lieberman-Burchard	-
Esteroides y triterpenos libres	Shinoda	-
Flavonoides	Gelatina sal	+++
Taninos		+++
Saponinas	Espuma	-
	Rosenthaler	
Naftoquinonas y antroquinonas	Bornträger-Kraus	++
Cumarinas	Fluorescencia	

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

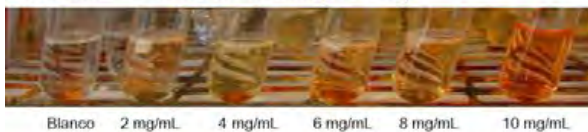
En la tabla 17 se pueden observar los resultados del extracto hidroalcohólico de hoja de *T. spathacea*, en la cual no se obtiene presencia de metabolitos secundarios.

**Tabla 17. Análisis fitoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico de hoja de *T. spathacea*.**

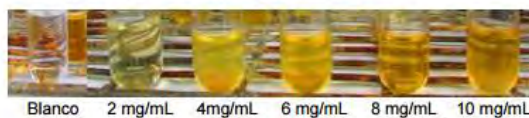
Metabolito secundario	Ensayo	Extracto-hidroalcohólico
<i>Hoja</i>		
Alcaloides	Mayer, Dragendorf	-
Glicósicos cardiotónicos	Keller-Killiani	-
	Lieberman-Burchard	
Esteroides y triterpenos libres	LiebermanBurchard	-
Flavonoides	Shinoda	-
Taninos	Gelatina sal	-
Saponinas	Espuma	-
Naftoquinonas y antroquinonas	Rosenthaler	-
	Bornträger-Kraus	-
Cumarinas	Fluorescencia	-

En la figura 12 se observan las reacciones específicas de color que se realizaron en cada metabolito secundario encontrado.

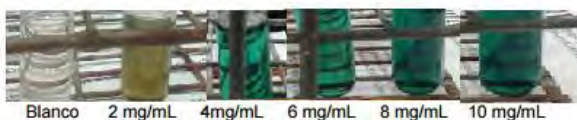
Flavonoides- Reacción de Shinoda (Ext.Ac.2)



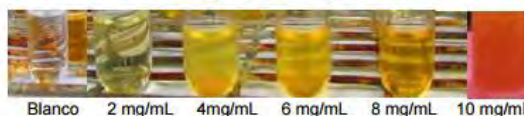
Alcaloides - Reactivo Mayer (Ext. Ac. 1)



Taninos -Gelatina-Sal y cloruro ferrico (Ext. Ac 1)



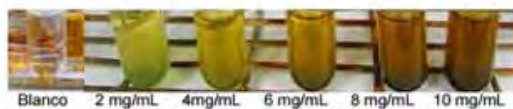
Alcaloides- Reactivo Mayer (Ext. Ac. 2)



Taninos -Gelatina-Sal y cloruro ferrico (Ext. Ac 2)

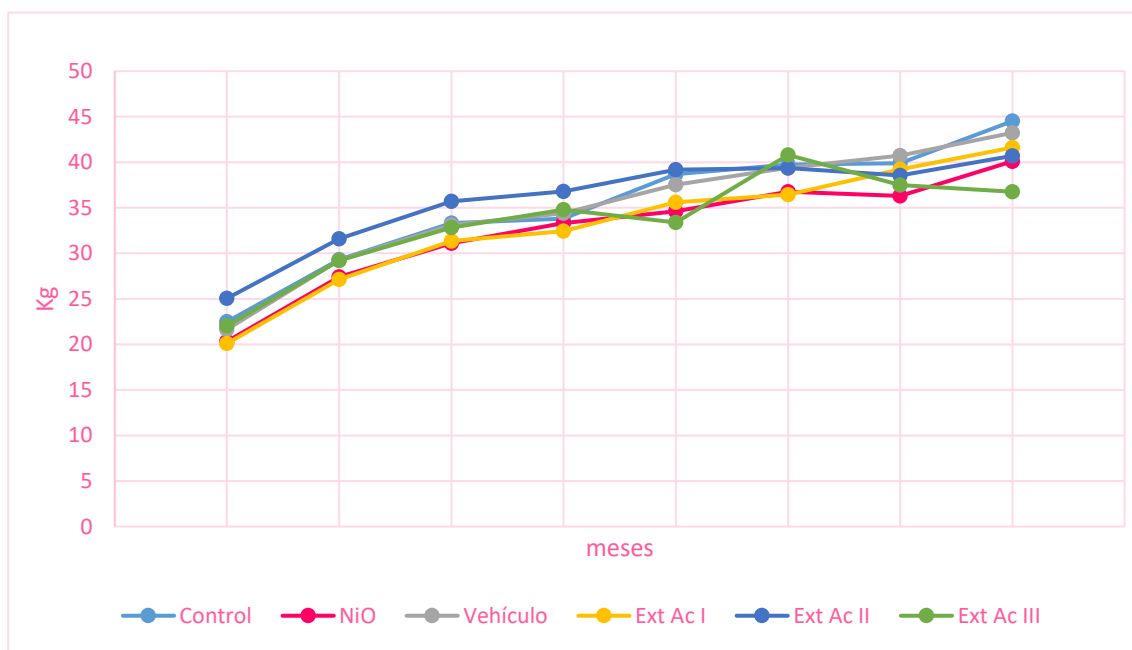


Alcaloides- Reactivo Mayer



**Figura 12. Pruebas colorimétricas de los extractos de *Tradescantia spathacea*.** Se identifica el color correspondiente a la presencia de metabolitos secundarios en cada reacción. Obteniendo color hasta en disoluciones de 10 mg/ml.

Se evaluó el peso de cada uno de los ratones, observándose que el grupo tratado con óxido de níquel mantuvo pesos similares a los del control (Grafico 2).

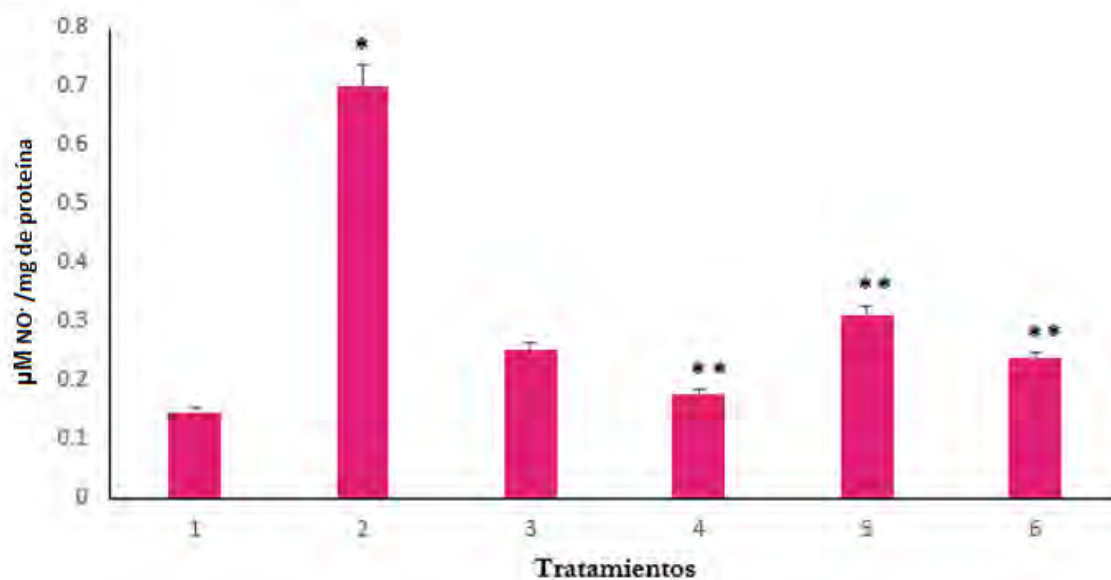


**Grafico 2. Pesos de ratones durante el experimento**



#### 8.4 Efecto de los extractos de hoja de *T. spathacea* sobre la concentración de óxido nítrico.

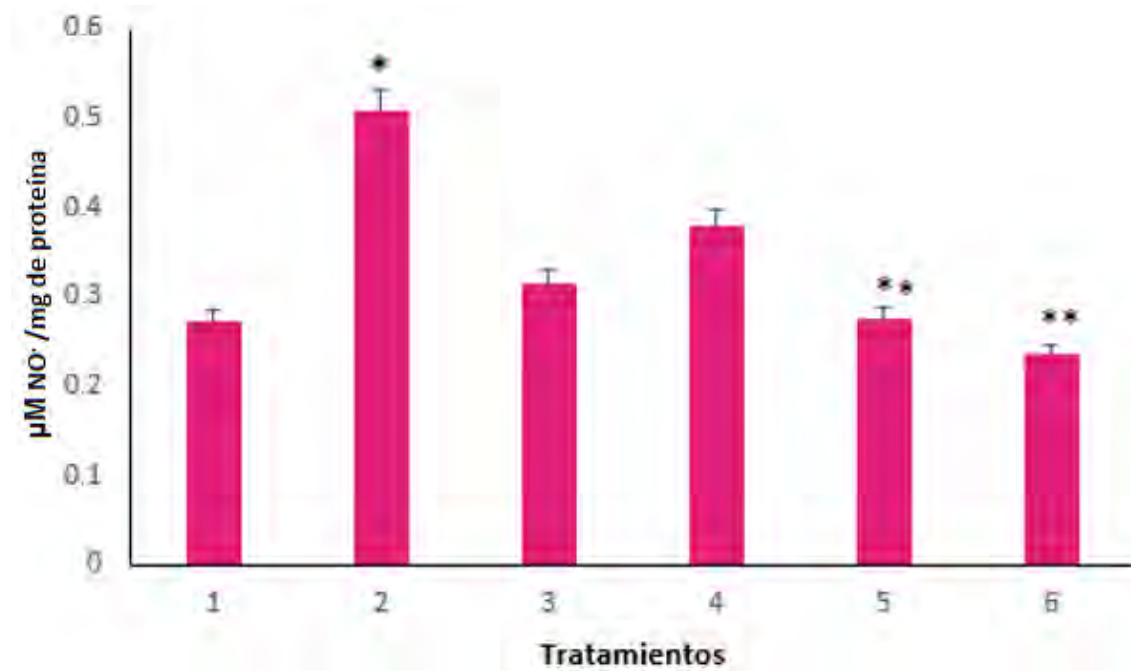
Los resultados obtenidos muestran un incremento significativo en la concentración de  $\text{NO}_2^-$  en plasma del grupo 2 inducido a cáncer con óxido de níquel con respecto al control negativo. Los grupos 5 y 6 inducidos a cáncer y tratados con extractos acuosos de hoja disminuyeron las concentraciones plasmáticas de  $\text{NO}_2^-$  respecto al control positivo, también se observa que en el grupo 4, el extracto acuoso 1 de hoja disminuye respecto al control negativo y al vehículo (Gráfico. 3).



**Gráfico 3. Efecto de los extractos acuosos de *T. spathacea* sobre la concentración de óxido nítrico ( $\mu\text{M NO}\cdot$  /mg de proteína) en plasma de ratones hembra de la cepa CD-1**

Grupo 1: Control negativo; Grupo 2: Control positivo (inducción de cáncer con NiO); Grupo 3: Vehículo (aceite de oliva); Grupo 4: Experimental (inducción de cáncer con NiO + 13.9 mg/kg de extracto de hoja); Grupo 5: Experimental (inducción de cáncer con NiO + 26.4 mg/kg de extracto de hoja); Grupo 6: Experimental (inducción de cáncer con NiO + 68 mg/kg de extracto de hoja); \*:  $p < 0.05$  vs grupo 1; \*\*:  $p < 0.05$  vs grupo 2.

Por otro lado, en hígado se observa un aumento significativo en las concentraciones de  $\text{NO}_2^-$  del grupo inducido a cáncer con óxido de níquel en contraste con el control negativo y el vehículo. Los extractos acuosos hoja de *T. spathacea* disminuyeron significativamente sus concentraciones de  $\text{NO}_2^-$  con respecto al control positivo, el grupo 6 (extracto acuoso 3) es el que presenta valores más bajos de concentración respecto al grupo control positivo (Gráfico 4).

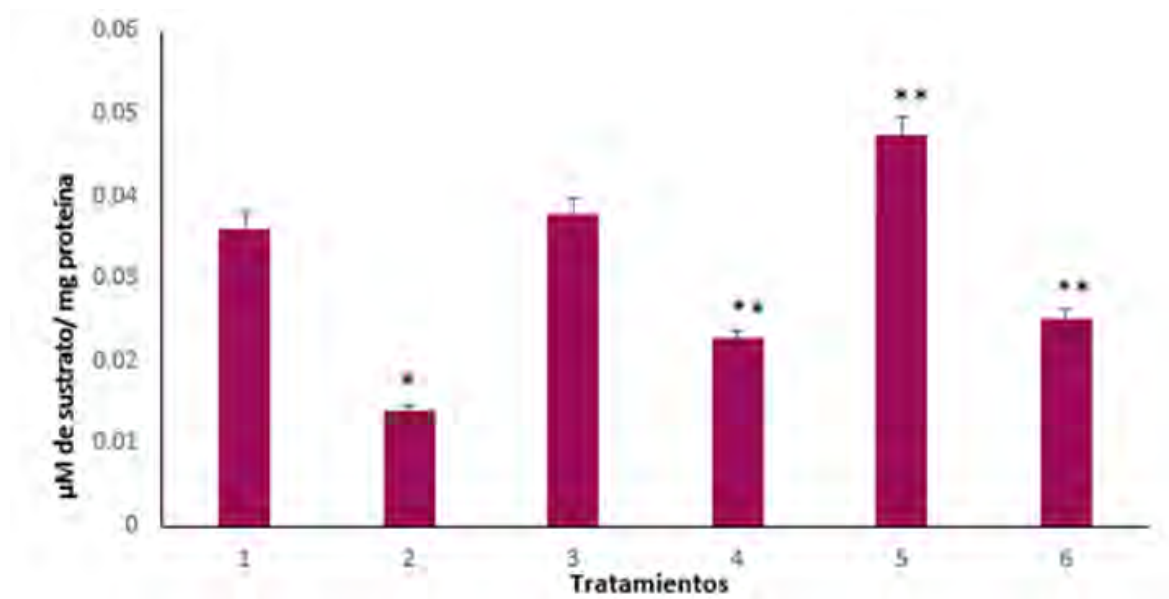


**Gráfico 4. Efecto de los extractos acuosos de *T. spathacea* sobre la concentración de óxido nítrico ( $\mu\text{M NO}_2^- / \text{mg de proteína}$ ) en hígado de ratones hembra de la cepa CD-1**

Grupo 1: Control negativo; Grupo 2: Control positivo (inducción de cáncer con NiO); Grupo 3: Vehículo (aceite de oliva); Grupo 4: Experimental (inducción de cáncer con NiO + 13.9 mg/kg de extracto de hoja); Grupo 5: Experimental (inducción de cáncer con NiO + 26.4 mg/kg de extracto de hoja); Grupo 6: Experimental (inducción de cáncer con NiO + 68 mg/kg de extracto de hoja); \*:  $p < 0.05$  vs grupo 1; \*\*:  $p < 0.05$  vs grupo 2.

### 8.5 Efecto de los extractos de hoja de *T. spathacea* sobre la concentración de catalasa.

Los extractos acuosos de hoja de *T. spathacea* muestran diferencia significativa de la actividad plasmática de catalasa con respecto al control inducido a cáncer con óxido de níquel (Gráfico 5).

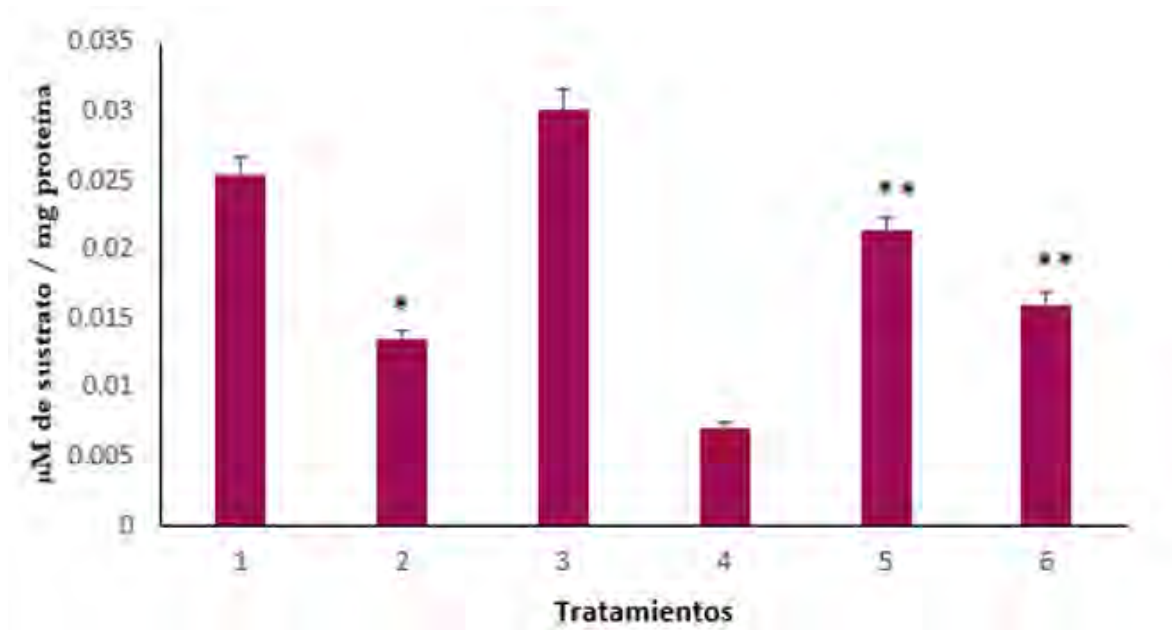


**Gráfico 5. Efecto de los extractos acuosos de hoja de *T. spathacea* sobre la actividad de la catalasa en plasma de ratones hembra de la cepa CD-1.**

Grupo 1: Control negativo; Grupo 2: Control positivo (inducción de cáncer con NiO); Grupo 3: Vehículo (aceite de oliva); Grupo 4: Experimental (inducción de cáncer con NiO + 13.9 mg/kg de extracto de hoja); Grupo 5: Experimental (inducción de cáncer con NiO + 26.4 mg/kg de extracto de hoja); Grupo 6: Experimental (inducción de cáncer con NiO + 68 mg/kg de extracto de hoja); \* p < 0.05 vs grupo 1; \*\*p < 0.05 vs grupo 2.

En hígado el extracto acuoso I no mostró disminución significativa de la actividad de la enzima catalasa con respecto al control inducido a cáncer con óxido de níquel.

El grupo 5 y 6 representa diferencia significativa respecto al control positivo, pero obteniendo similitud al grupo 1 (Gráfico 6).

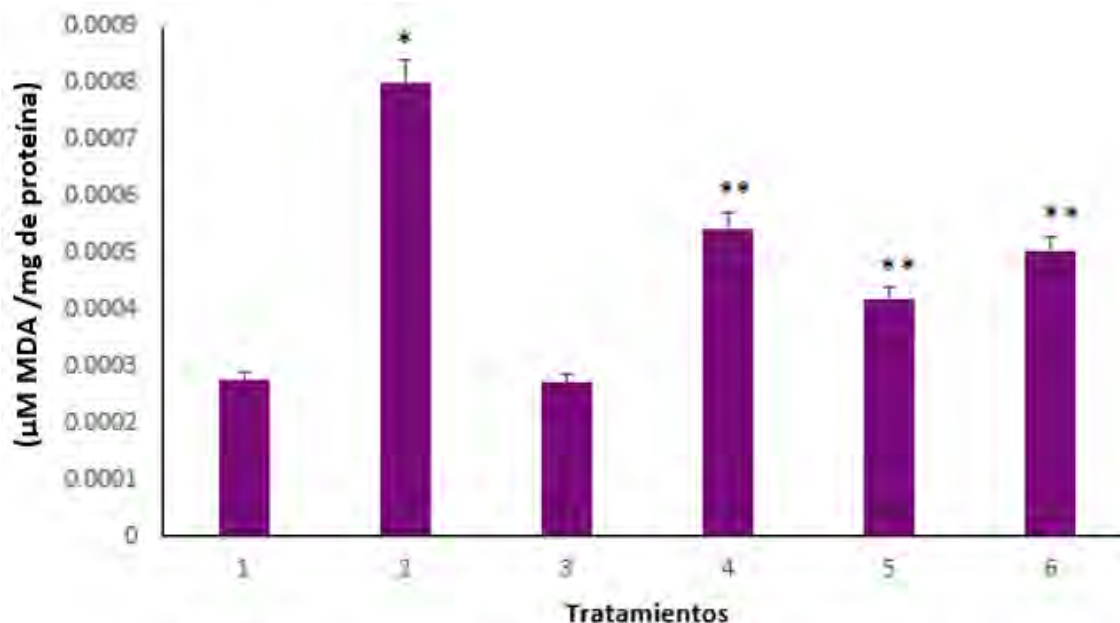


**Gráfico 6. Efecto de los extractos acuosos de hoja de *T. spathacea* sobre la actividad de la catalasa en hígado de ratones hembra de la cepa CD-1.**

Grupo 1: Control negativo; Grupo 2: Control positivo (inducción de cáncer con NiO); Grupo 3: Vehículo (aceite de oliva); Grupo 4: Experimental (inducción de cáncer con NiO + 13.9 mg/kg de extracto de hoja); Grupo 5: Experimental (inducción de cáncer con NiO + 26.4 mg/kg de extracto de hoja); Grupo 6: Experimental (inducción de cáncer con NiO + 68 mg/kg de extracto de hoja); \*  $p < 0.05$  vs grupo 1; \*\* $p < 0.05$  vs grupo 2.

### 8.6 Efecto de los extractos de hoja de *T. spathacea* sobre la concentración de MDA.

Respecto a la concentración de MDA los tres grupos con extracto de hoja de *T. spathacea* redujeron la concentración de MDA (Gráfico 7).



**Gráfico 7. Efecto de los extractos acuosos de hoja de *T. spathacea* sobre la concentración de MDA en hígado de ratones hembra de la cepa CD-1.**

Grupo 1: Control negativo; Grupo 2: Control positivo (inducción de cáncer con NiO); Grupo 3: Vehículo (aceite de oliva); Grupo 4: Experimental (inducción de cáncer con NiO + 13.9 mg/kg de extracto de hoja); Grupo 5: Experimental (inducción de cáncer con NiO + 26.4 mg/kg de extracto de hoja); Grupo 6: Experimental (inducción de cáncer con NiO + 68 mg/kg de extracto de hoja); \*  $p < 0.05$  vs grupo 1; \*\* $p < 0.05$  vs grupo 2.

## IX. ANALISIS DE RESULTADOS

### 9.1 Registro etnofarmacológico de *Tradescantia spathacea*.

Actualmente en la comunidad Limón Chiquito, Veracruz, la población hace uso de plantas medicinales para atenderse, según el rango de edad de los entrevistados en este registro, la población adulta es la de mayor conocimiento medicinal, cabe mencionar que estos conocimientos son transmitidos de generación en generación, sin embargo la población joven tiende a no recurrir al uso de estas plantas por falta de conocimiento de sus propiedades.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el 80% de la población mundial recurre a la medicina tradicional para atender necesidades de atención primaria de salud, lo que ha incrementado el interés científico y la comprobación de las propiedades medicinales atribuidas a dichas plantas (Cruz y Castillo, 2008; Wong, Thornber y Baker, 2001). Por otra parte, observamos en la comunidad de estudio que el poblado no posee fuentes de trabajo que permitan tener ingresos para adquirir medicamentos y atender enfermedades, por ello siguen recurriendo a plantas con actividad medicinal como primera opción de atención, ya que, los problemas de salud que afectan a la población son enfermedades de atención primaria.

Existen diversos estudios etnobotánicos y farmacológicos de *Tradescantia spathacea* enfocados en sus propiedades contra diabetes, cefalea, gonorrea y gangrena, utilizada también para acelerar la cicatrización y contrarrestar tos y bronquitis, mientras que otros estudios han comprobado actividad antitumoral, antígenotóxica, antimutagénica, antioxidante y antimicrobiana. (Palacios y Barreda, 2000; Joash *et al.*, 2014; Díaz, *et al.*, 2008; Quoc *et al.*, 2015; Pérez, 1996; Smith, 2004; Rosales *et al.*, 2007; Santiago, 1996).

El uso de *T. spathacea* como antiinflamatorio, reportado en las entrevistas de la comunidad, está registrado por Díaz *et al.* (2008), donde utilizan un extracto hidroalcohólico (60:40) vía maceración y secado a temperatura ambiente, el cual tiene un efecto antiinflamatorio en un modelo murino.

## 9.2 Análisis fitoquímico preliminar de *Tradescantia spathacea*.

De acuerdo a los estudios químicos citados de *Tradescantia spathacea* no hay registro de alcaloides, sin embargo, este metabolito secundario fue encontrado en los dos extractos acuosos. Los alcaloides, son extremadamente difíciles de definir porque no representan un grupo homogéneo de compuestos, sea desde el punto de vista químico, bioquímico, ecológico o fisiológico, en lo único en que coinciden es que son compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno básico, muchos de ellos son insolubles o poco solubles en agua, y reaccionan con los ácidos para formar sales. En la detección de alcaloides, la formación del precipitado aumentó con respecto a las concentraciones experimentales (2 mg/mL, 4mg/mL, 6mg/mL, 8 mg, mL, 10 mg/mL).

A los alcaloides se les atribuyen actividades citotóxicas, además de ser potentes agentes anticancerígenos, antineoplásicos y estimulantes del sistema nervioso central, razón por la cual son utilizados en el tratamiento contra el cáncer. (Kutchan, 1995; Ghosh, 2000). Este grupo de metabolitos es el de mayor importancia para la industria farmacéutica debido a las propiedades que presentan, por lo tanto, la presencia de alcaloides en *Tradescantia spathacea* infiere que este metabolito contribuye a la actividad antiinflamatoria y antiséptica reportada en las entrevistas, así como en el efecto antioxidante.

El segundo grupo que presenta mayor abundancia en los extractos de hoja de *T. spathacea* son los taninos, según Palacios y Barreda (2000) describen registro de taninos en un análisis fitoquímico de *Rhoeo spathacea*. Por otra parte, puesto que los extractos acuosos de hojas de *T. spathacea* ocasionaron precipitación del reactivo gelatina - sal, puede concluirse que en este órgano se concentran los taninos producidos por la planta, y dado que el precipitado obtenido produce coloración verde tras la adición de cloruro férrico, se infiere que estos taninos son del tipo catéquico o condensados (Carvajal *et al*, 2009).

La alta cantidad producida de precipitado en la identificación de taninos nos indica una alta concentración de éstos compuestos en las hojas. Los taninos condensados han sido tema de múltiples revisiones científicas, destacando su propiedad antioxidante *in vitro* e *in vivo*, además de que se ha reportado que poseen beneficios a la salud por su actividad antibacterial, anticancerígena, inhibidora de la peroxidación lipídica (Vázquez *et al*, 2012). Una vez mencionado lo anterior, se infiere que la actividad antibacterial que presentan las hojas de *Tradescantia spathacea* proviene de los taninos, así como gran cantidad de propiedades que la revisión etnobotánica ha descrito a la especie.

Vázquez *et al*, (2012) menciona que la naturaleza química de los taninos condensados ha permitido un mayor monitoreo de su presencia en alimentos, puesto que para su determinación todos pueden ser degradados a antocianidinas (flavonoides) de fácil identificación por HPLC, lo que nos lleva a mencionar que diversos estudios químicos de *T. spathacea* han demostrado que uno de los principales metabolitos biosintetizados por esta especie, son los flavonoides, y que la planta contiene antocianinas de tipo rhoenina, las antocianinas son un grupo de pigmentos de

color rojo, hidrosolubles, que pertenecen al grupo de los flavonoides y su estructura básica es un núcleo de flavón, químicamente están constituidas por una molécula de antocianidina, se observó en el extracto 2 coloraciones rojas intensas en la identificación de flavonoides, dao que sugiere la presencia de rhoenina (Tabla 16).

El interés en los pigmentos antociánicos se ha intensificado debido a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas que incluyen efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos. Estudios han demostrado que son efectivas en atrapar especies reactivas del oxígeno, además de inhibir la oxidación de lipoproteínas y la agregación de plaquetas (Aguilera *et al.*, 2011; Castro *et al.*, 2013),

Otro grupo de metabolitos secundarios, reportado y encontrado para esta especie son las cumarinas y entre las actividades biológicas encontradas para las cumarinas podemos mencionar las propiedades anticoagulantes, estrogénicas, antiproliferativas, diferenciantes, fotosensibilizantes, antiinflamatorias, antimicrobianas, vasodilatadoras, sedativas, analgésicas y antipiréticas (Barata, 2007).

Los estudios fitoquímicos realizados en plantas medicinales, preferentemente en aquellas que son utilizadas como antiinflamatorias y anticancerígenas nos lleva a comprobar que estas especies contienen compuestos flavónicos y/o cumarínicos (Hirano, Gotoh y Oka, 1994), ya que la actividad biológica de las cumarinas como anticarcinogénico se debe a la posición del grupo carbonilo y conjugación con el doble enlace en el anillo lactónico, desarrollando así un dipolo que ayuda a la orientación y acoplamiento de la molécula en un ambiente biológico apropiado (Domínguez, 2002).

Finalmente el extracto acuoso 2, tiene una mayor presencia de metabolitos secundarios con respecto al extracto acuoso 1, hecho que se explica por el tiempo de cocimiento del material vegetal. A diferencia del extracto 1, el extracto acuoso 2 es sometido a 10 minutos más de calor, lo que genera que un mayor número de metabolitos secundarios sean extraídos de las hojas de *T. spathacea*.

En el extracto hidroalcohólico no se observa presencia de metabolitos, posiblemente se requiera tiempos de extracción más largos y con mayor cantidad de material vegetal; según Yilmaz y Toledo (2006) mencionan que estos extractos tienen gran eficacia, puesto que estas disoluciones son más eficientes que el agua para la extracción de compuestos fenólicos, y a pesar de que en esta investigación la mayor parte de metabolitos secundarios obtenidos se agrupan en compuestos fenólicos, se ha obteniendo mejor resultado de una extracción acuosa, posiblemente debido al calentamiento de material vegetal.



### 9.3 Efecto de los extractos acuosos de *T. spathacea* sobre la concentración de óxido nítrico

El óxido nítrico NO<sup>·</sup> es una molécula que químicamente pertenece a la familia de los óxidos de nitrógeno, siendo el compuesto más conocido de esta serie el óxido nitroso (N<sub>2</sub>O). Otro gas familiar es el dióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>), el cual se produce de la reacción de NO con O<sub>2</sub>.

$$2 \text{NO}^{\cdot} + \text{O}_2 \rightarrow 2 \text{NO}_2^{\cdot}$$

Independientemente de su reacción con O<sub>2</sub>, el NO puede reaccionar bajo condiciones que le permitan ganar o perder un electrón para formar el anión nitroxilo (NO<sup>-</sup>) y el ion nitrosonio (NO<sup>+</sup>), respectivamente.

El principal producto de la autooxidación del NO en disolución acuosa es el nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>). En sistemas biológicos, el tipo y la velocidad del metabolismo del NO depende esencialmente de la concentración de otros biorreactantes. La difusión es un proceso esencial para entender la habilidad del NO para actuar como modulador local y es el determinante más importante de su vida media biológica. Por ejemplo, el nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) como biorreactante con masa molecular de 46g tiene una concentración en plasma de aproximadamente 0.1 a 0.5 μmol/L y una vida media en sangre de 110 segundos (Tenorio, *et al.*, 2008).

La concentración de nitritos obtenidos en plasma en los grupos sometidos a tratamiento con extracto de *T. spathacea* muestran diferencia significativa respecto al control positivo, pese que los organismos también fueron tratados con óxido de níquel (Grafico 3), según Hong *et al.*, (2013) la exposición al NiO está relacionada a un proceso de carcinogénesis.

La concentración de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> en el control positivo de 0.7 μM disminuyó en los grupos 4, 5 y 6, que oscilan entre 0.17 a 0.3 μmol/L. La presencia de flavonoides puede contribuir a dicha disminución, ya que, estos compuestos tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías, incluyendo el cáncer, al interactuar de manera directa con las especies reactivas produciendo complejos estables o de menor actividad (Martínez, 2007) y así disminuyen el daño oxidativo en el sistema.

En el hígado, al igual que en otros órganos el óxido nítrico cumple diversas e importantes funciones, entre ellas se destaca su papel como mediador primario de lesiones en células hepáticas, así como su implicación en procesos de apoptosis, esto dependiendo del microentorno en el que es generado (Hortelano *et al.*, 1997). Los extractos acuosos de *T. spathacea* mostraron disminución significativa en la concentración de nitritos en hígado (Grafico 4). Siendo particularmente el extracto 3 el de mayor efecto. Según Tuncyurek *et al.*, 2006 el NO en bajas concentraciones es necesario y suficiente para proporcionar efectos antiinflamatorios, mientras que a concentraciones altas conduce a daño mitocondrial y al DNA, así como promover la generación de radicales peroxinitritos.

Por lo tanto, las concentraciones de nitritos obtenidas en plasma e hígado de los grupos experimentales, indican que la hoja de *T. spathacea* presenta un efecto regulador contra la generación de RNS y confirma su uso para el tratamiento de enfermedades que conlleven procesos inflamatorios, entre ellos el cáncer.

#### 9.4 Efecto de los extractos acuosos de *T. spathacea* en la actividad de la catalasa

La catalasa como uno de los principales sistemas de defensa antioxidante, transforma el  $H_2O_2$  en  $H_2O$  Y  $O_2$ , esta vía es de gran importancia para la viabilidad de la célula, pues la formación del  $H_2O_2$  tiene lugar durante procesos fisiológicos como por ejemplo la respiración celular y si no se retiran oxidantes como el  $H_2O_2$  pueden dar lugar a través de la reacción de Fenton, a los altamente reactivos radicales hidroxilo.

En el tejido hepático, la principal defensa contra los radicales libres es llevada a cabo por un sistema enzimático constituido fundamentalmente por tres enzimas: la familia SOD, la catalasa y la familia glutatión peroxidasa.

Según Santofimia (2014) el destino de la célula dependerá de la habilidad de los antioxidantes para inducir un entorno antioxidante, ya que la disponibilidad de defensas antioxidantes es esencial para la supervivencia celular, jugando un papel destacado en el estado de oxidoreducción.

La diferencia significativa que presentan los grupos en tratamiento, pese a haber sido tratados con NiO, se debe a la actividad de metabolitos secundarios como los alcaloides, siendo el grupo más abundante, encontrado en tres extractos de *T. spathacea* y representantes de una gran actividad antineoplásica (Kutchan, 1995), así se pueden relacionar con un efecto regulador de la concentración de catalasa y  $NO_2^-$  en los grupos inducidos a estrés oxidativo por NiO. También se encuentra la participación de los flavonoides, en diversos estudios se ha confirmado su capacidad antioxidante y secuestradora de radicales libres (Dias y cols., 2005; Moreira y cols., 2004), además de mostrar la capacidad de inhibir eventos carcinogénicos (Hoensch y Kirch, 2005).

Por otra parte mencionaremos a los taninos, que al ser compuestos polifenólicos, han estado sujetos a múltiples revisiones científicas, destacando sus propiedades antioxidantes, como mencionamos anteriormente los taninos encontrados en este estudio son de tipo condensado; reconocidos por cierta actividad anticancerígena y antioxidante en modelos experimentales *in vitro* e *in vivo*, como el pentagonil glucosa (PGG), el cual ha sido probado para cáncer de próstata y pulmón, en ambos padecimientos inhibe factores de crecimiento tumoral y vascular, además no solo impide el crecimiento de tumores, sino también disminuye su tamaño, impidiendo procesos de angiogénesis (crecimiento vascular muy común en metástasis (Zhang *et al.*, 2009), y aunque desconocemos los taninos específicos relacionados a *T. spathacea*, se puede comprobar la participación de estos compuestos en la disminución del efecto oxidante en los grupos expuestos a NiO, tanto en la actividad de la catalasa, como en la concentración de  $NO_2^-$ .

Finalmente diversos estudios se han enfocado en cumarinas aisladas de varias especies, donde se ha demostrado actividad antiproliferativa en líneas celulares de cáncer (Barata, 2007) y aunque este estudio se enfoca en una identificación de metabolitos secundarios, no se puede eludir la participación de cumarinas en las bajas concentraciones de los parámetros de estrés oxidativo.

### **9.5 Efecto de los extractos acuosos de *T. spathacea* en la concentración de MDA.**

La acción de las ERO sobre los lípidos implica la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados, provocando su peroxidación, esta reacción conduce a la formación de malondialdehído (MDA) y los compuestos de dieno conjugado, que son citotóxicos y mutagénicos (Santofimia, 2014). Dado lo anterior se evaluó la concentración de MDA como una medida indirecta de lipoperoxidación.

Se sabe que los radicales libres que más afectan a los lípidos son el radical hidroperóxilo y el oxígeno singlete (Santofimia, 2014), sin embargo las antocianinas reportadas en *T. spathacea* son efectivas en atrapar especies reactivas del oxígeno, además de inhibir la oxidación de lipoproteínas y la agregación de plaquetas (Aguilera *et al.*, 2011), dando como resultado una regulación en la concentración de MDA.

## X. CONCLUSIONES

- Los habitantes de la comunidad Limón Chiquito utilizan el té de hoja de *Tradescantia spathacea* principalmente como antiséptico y antiinflamatorio.
- Los extractos de hoja de *T. spathacea* son fuente de alcaloides, taninos, flavonoides y cumarinas; moléculas que son obtenidas por cocimiento a fuego lento por 10 min.
- Los tratamientos NiO +13.9 mg/kg, NiO + 26.4 mg/kg y NiO + 68 mg/kg de *T. spathacea* presentaron actividad antioxidante por medio de la evaluación de la concentración de nitritos y catalasa en plasma, así como en la concentración de MDA en hígado.
- Los tratamientos NiO + 26.4 mg/kg, y NiO + 68 mg/kg de *T. spathacea* presentaron actividad antioxidante por medio de la evaluación de la concentración de nitritos y catalasa en hígado.
- El tratamiento NiO + 26.4 mg/Kg de *T. spathacea* presento mayor actividad en la concentración de catalasa en plasma y MDA en hígado.
- El método tradicional de cocción demuestra la eficacia de los extractos acuosos de *T. spathacea* ante fenómenos de daño oxidativo.
- La presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides, taninos y cumarinas, podrían ser las responsables de la actividad antioxidante que presenta la hoja de *Tradescantia spathacea*.

## XI. REFERENCIAS

1. Adachi, M., Zhang, Y., Zhao, X., Minami, T., Kawamura, R., Hinoda, Y. Imai, K. 2004. Clin. Cancer Res. (10); 3853-3862.
2. Adarmes, H., Solís, J., Müller, A. y Galleguillos, M. 2009. Determinación de nitrito como metabolito estable del óxido nítrico en el líquido sinovial de articulación metacarpofalángica equina. Arch Med Vet. 41, 255-259.
3. Adonis, E. Zorrilla, G. 2002. El Envejecimiento y el Estrés Oxidativo. Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas. 21(3): 178-85.
4. Aguilera, M. *et al.*, 2011. Propiedades funcionales de las antocianinas. Facultad de Ciencias Químicas. Biotécnica. 8(2): 16-22.
5. Arango, G. 2008. Alcaloides y compuestos nitrogenados. [Manual] Medellín. Universidad de Antioquia. Facultad de Química Farmacéutica. Pp 5-16.
6. Arango, G. 2010. Compuestos derivados del ácido shikimico. [Manual] Medellín. Universidad de Antioquia. Facultad de Química Farmacéutica. Pp 8-13.
7. Ávalos, A. y Pérez, E. 2009. Metabolismo secundario de las plantas. Reduca, Fisiología Vegetal. 2(3):119-145.
8. Barajas, M., Fernández, A. y Galindo, A. 2005. Diversidad y composición de la familia Boraginaceae en el departamento de Santander (Colombia). Casdasia. 27 (2):151-172.
9. Barata, S. 2007. Identificación de cumarinas en especies autóctonas del genero *Pterocaulon ell.* Tesina. Facultad de ciencias exactas y naturales. Universidad de Belgrano.
10. Begoña, M., Hernández, A., Rangel, B., García, O., Ferriz, R. y García, T. 2013. Antioxidants, reactive oxygen species and cancer: the good, the bad and the ugly?. Universidad Autónoma de Querétaro. Fac. De Ciencias Naturales. Pp 11.
11. Benítez, D. 2006. Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo. Rev. Cubana de Investigación Biomédica. 25 (2).
12. Bruneton, J. 2008. Pharmacognosy Phytochemistry, Medicinal Plants, 2nd ed. Paris: Lavoisier Publishing.
13. Cárdenas, N. y Pedraza, J. 2006. Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos. Educación Química 17(2): 164-173.
14. Carvajal, L., Hata, Y., Sierra, N., Rueda, D. 2009. Análisis fitoquímico preliminar de hojas tallos y semillas de cúpata (*Stychnos schultesiana kinkoff*). Colombia Forestal.12: 161-170.

15. Castro, V., Rungeler, P., Murillo, R., Hernandez, G., Mora, H., Pahl, I. 2013. Study of sesquiterpene lactones from *Milleria quinqueflora* on their anti-inflammatory activity using the transcription factor NF-Kappa B as molecular target. *Phytochemistry*. 53: 257-263.
16. Céspedes, M., Ela, M. 1996. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar radicales libres. *Rev Cubana Inv Biomed*. 15(2):75-78.
17. Clapés, S. 2000. Diabetes Mellitus, Estrés Oxidativo y Embarazo. *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas*; 19(3): 191-5.
18. Córdova, A., Ruiz, G., Córdova, C., Córdova, M., Guerra, J., Rodríguez, B. y Arancibia K. 2009. Estrés oxidativo y antioxidantes en la conservación espermática. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*. 3(1): 1-38.
19. Coulter, I., Hardy, M., Shekelle, P. y Morton, S. 2003. Effect of the supplemental use of antioxidants vitamin C, vitamin E, and coenzyme Q10 for the prevention and treatment of cancer. *J Gen Intern Med*. 21: 735-744.
20. Cronquist, A. 1988. The evaluation and classification of flowering plants, 2<sup>nd</sup> edn. New York. Botanical Garden, Bronx: New York.
21. Cruz, C. y Castillo, D. 2008. Etnobotánica en el Batey Palavé: prueba de sensibilidad y resistencia microbiana de cinco plantas utilizadas en atención primaria de salud. *Ciencia y Sociedad*, 33(3): 361-387.
22. Dias, A., Porawski, M., Marroni, N., Alonso, M., Collado, P y Gonzalez, J. 2005. Quercetin decreases oxidative stress, NF-kappaB activation, and iNOS overexpression in liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Nutr* 135:2299-304.
23. Díaz M., Pérez Y., Cazaña Y., Prieto M., Wencomo H., y Lugo Y. 2010. Determinación de antioxidantes enzimáticos en variedades e híbridos de *Morus alba*. *Rev. Pastos y Forrajes*. 33(3).
24. Díaz, V., González, M. y Gómez, A. 2008. Estudio químico y farmacológico del extracto hidroalcohólico de Maguey Morado (*Tradescantia spathacea Sw*). Tomado de [www.ujat.mx](http://www.ujat.mx).
25. Diplock A. 1991. Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. *Am J Clin Nutr*. 53(1):89-93.
26. Domínguez, O. 2002. Elucidación estructural y actividad antimicrobiana de los metabolitos presentes en *Rhoeo discolor* L. Her Hance. Tesis Doctoral en Ciencias, Area Biotecnología. Universidad de Colima, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias.
27. Dorado, C., Rugerio, C. y Rivas, S. 2003. Estrés oxidativo y neurodegeneración. *Rev. Facultad de Medicina. UNAM*. 46(3). 229-235.
28. Drögue, W. 2002. Free Radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 82: 47-95.

29. Escamilla, J., Cuevas, M., Guevara, F. 2009. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. Rev Fac Med UNAM. 52 (2): 73-75.
30. Espejo, A., López, A. y Ceja, J. 2009. Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. Departamento de Biología. México, D.F.
31. Fassiano, A., Ortiz, N. y Ríos, M. 2012. Estrés oxidativo en cefalópodos I. Determinación de TBARS. Acta Toxicol. Argent. 20 (2): 57-61.
32. Galvis, L., Saez, J., Granados, H., Salazar, A., Ossa, J. 1999. Antitumor and Antiviral Activity of Colombian Medicinal Plant Extracts. 94(4): 531-535.
33. García, B., Saldaña B. y Saldaña G. 2012. El estrés oxidativo y los antioxidantes en la prevención del cáncer. Revista Habanera de Ciencias Médicas. 12 (2): 187-196.
34. Ghosh, B. 2000. Polyamines and Plant Alkaloids. Indian Journal Exp. Biol. 38(11):1086-91.
35. González, M., Arriaga, M., De la Garza, M., Hernández, M., Domínguez, M., Fattel, S., Villa, S. 2003. Antigenotoxic, antimutagenic and ROS scavenging activities of a *Rhoeo discolor* ethanolic crud extract. Toxicology in Vitro. 17: 77-83.
36. González, M., Betancourt, M. y Ortiz, R. 2000. Daño oxidativo y antioxidantes. Bioquímica, 25(2): 3-9.
37. Gutiérrez G. y Hernández C. 2011. Procedimientos experimentales del laboratorio de Bioquímica. 1ª ed. Buena Onda. Universidad Nacional Autónoma de México.
38. Hansberg, T. 2002. Biología de las especies reactivas de oxígeno. Mensaje Bioquímico. 26:19-54.
39. Halliwell, B. 1990. "How to characterize a biological antioxidant", in Free Radical Research Communication. 9: 1-32.
40. Halliwell, B., Gutteridge, M. 1999. Free Radicals in Biology and Medicine, Oxford University Press, Nueva York, USA, 3ª Ed.
41. Hart, C., Cohen, R., Norwood, M. y Stebbing, J. 2012. The emerging harm of antioxidants in carcinogenesis. Future Oncol. 8(5):535-548.
42. Hernán, A., Greig, D., Castro, P., Verdejo, H., Mellado, R., García, L., Díaz, G., Quiroga, C., Chiong, M. y Lavandero S. 2011. Ácido úrico; una molécula con acciones paradójicas en la insuficiencia cardíaca. Rev Med Chile. 139: 505-515.
43. Hirano, T., Gotoh M. y Oka K. 1994. Natural flavonoids and lignans are potent cytostatic agents against human leukemic HL-60 cell Life. 55: 1061-1069.

44. Hoensch, H. y Kirch, W. 2005. Potential role of flavonoids in the prevention of intestinal neoplasia: a review of their mode of action and their clinical perspectives. *Int J Gastrointest Cancer* 35:187-95.
45. Hong, S., Magdy, S., Costa, M. 2013. Nickel and Epigenetic Gene Silencing. *Genes Open acces.* 1: 1-5.
46. Hortelano, S., Dallaporta, B., Zamzami, N. 1997. Nitric oxide induces apoptosis via triggering mitochondrial permeability transition. *FEBS Lett.* 410:373-377.
47. Huerta, M., Ortega, M., Cobos, M, Herrera, J., Díaz, A., Guinzberg, R. 2005. Estrés Oxidativo y el Uso de Antioxidantes en Animales Domésticos. *Interciencia*, 30(12): 728-734. Caracas, Venezuela.
48. Hunt, C. 1996. *Rhoeo* and *Zebrina* United with *Tradescantia*: American Commelinaceae: XIII. Royal Botanic Gardens, Kew. 41(2): 401-405.
49. Idaka, E., Ohashi, Y., Ogawa, T., Kondo, T. y Goto, T. 1987. Structure of *Zembrin*, A novel acylated anthocyanin isolated from *Zebrina pendula*. 28(17): 1901-1904.
50. Idaka, E., Toshihiko, O., Tadao, K. y Toshio, G. 1987. Isolation of highly Acylated Anthocyanins from *Commelinaceae* Plants, *Zebrina pendula*, *Rhoeo spathacea* and *Setcreasea purpurea* Agric. Biol, Chem. 51(8): 2215-220.
51. Insua, M. 2003. Radicales Libres, Estrés Oxidativo y Ejercicio. Laboratorio de Neurobiología del Desarrollo. Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca. *Rev. Digital- Buenos Aires.* 9(66).
52. Joash Ban Lee Tan., Yau Yan Lim., Sui Mae Lee. 2014. *Rhoeo spathacea* (Swartz) Stearn leaves, a potential natural food colorant. *Journal of functional foods* 7: 443-451.
53. Jones, D., Carlson, J., Mody, V., Cal, J. 2000. Redox state of glutathione in human plasma. *Free Radic Biol Med.* 28(4):625-35.
54. Justo, R. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev. Cubana. Medicina Militar.* 31(2):126-33.
55. Kliebenstein, D. 2004. Metabolitos secundarios e interacciones planta/medio ambiente: una visión a través de *Arabidopsis thaliana*. *Plantas, Celular y del Medio ambiente.* 27: 675-684.
56. Kosaku, T., Yamaguchi, S., Iwata, K., Fujimori, T. y Sayed Z. 1996. A malonylated anthocyanin and flavonols in the blue flowers of *Meconopsis*. *Phytochemistry.* 42(3): 863-865.
57. Kutchan, T. 1995. Alkaloid biosynthesis: The basis for metabolic engineering of medicinal plants. *Plant Cell.* 7: 1059-1070.



58. Maldonado, O., Nahúm, E., Bernabé, M., Ceballos, G. y Méndez, E. 2010. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. *Rev. Med.* 1: 32-37.
59. Maldoni, B. 1991. Alkaloids: Isolation and Purification. *Journal of Chemical Education.* 68: 700-703.
60. Martínez, A. 2001. Saponinas Esteroides. [Manual] Medellín. . Universidad de Antioquia. Facultad de Química Farmacéutica.
61. Martínez, A. 2002. Esteroides cardiotónicos. [Manual] Medellín. Universidad de Antioquia. Facultad de Química Farmacéutica.
62. Martínez, A., Gordillo, J. y Guadarrama, M. 2011. El maguey morado: Conociendo su diversidad a través del ADN. *CONABIO. Biodiversitas,* 96:6-10.
63. Martínez, C., Vargas, C., Arancibia, S. 2003. Estrés oxidativo y neurodegeneración. *Rev. Facultad de Medicina UNAM.* 46:229-235.
64. Martínez, F., González, G., Culebras, J, Tuñon, M. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr Hosp.* 17(6): 271-278.
65. Martínez, J. 2007. Evaluación de la Actividad Antioxidante de Extractos Orgánicos de Semillas de *Heliocarpus terebinthinaceus*. Universidad Tecnológica de la Mixteca. Huajuapán de León, Oaxaca.
66. Martínez, M. 1979. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas medicinales de México, Fondo de cultura Económica.
67. Mayor, O. 2010. Estrés oxidativo y sistema de defensa antioxidante. *Rev. Inst. Med. Trop.* 5(2): 23-29.
68. Montero, E. 1996. Los radicales libres y las defensas antioxidantes. *Facultad de Medicina (Perú).* 57(4):278- 281.
69. Montoliu, A. 2010. Respuestas fisiológicas de los cítricos sometidos a condiciones de estrés biótico y abiótico. Aspectos comunes y específicos. Universidad Jaume. (Tesis Doctoral).
70. Mora, A., Aragón, D., Ospinga, L. 2009. Caracterización del estrés oxidativo en ratas wistar diabéticas por estreptozotocina. *VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica.* 16(3): 311-319.
71. Moreira, A., Fraga, C., Alonso, M., Collado, P., Zetler, C. y cols., 2004. Quercetin prevents oxidative stress and NF-kappaB activation in gastric mucosa of portal hypertensive rats. *Biochem Pharmacol.* 68:1939-46.
72. Núñez, A. 2011. Antioxidant therapy, oxidative stress and antioxidant products: challenges and opportunities. *Revista Cubana de Salud Pública.* 37: 644-660.
73. Lacy, A., O’Kennedy, R. 2004. Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer. *Curr Pharm Des.* 10 (30): 3797 – 3811.

74. Ortiz, A., Castillo, R., Beausaleil, I. 1994. Carcinogenesis por oxido de níquel en 2 líneas de ratones consanguíneas. Rev. Cubana de Oncología. Vol 11-1: 95.
75. Otero W., Velasco H. 2009. The protective role of bilirubin in human beings. Rev Col Gastroenterol. 24: 287-294.
76. Palacios, A. y Barreda, C. 2000. Efecto de la *Rhoeo spathacea* Sw. (Arca de Noe) en la glicemia de ratas albinas diabéticas. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Médicas. Unidad de Tesis CICS.
77. Pérez, R. 1996 Anti-inflammatory activity of *Ambrosia artemisiaefolia* and *Rhoeo spathacea*. Phytomedicine 3:163-167.
78. Prasad, N., Kumar, A., Kochupillai, V. y William CC. 1999. High Doses of Multiple Antioxidant Vitamins: Essential Ingredients in Improving the Efficacy of Standard Cancer Therapy. Journal of the American College of Nutrition. 18(1):13–25.
79. Quoc Hug Vo., Phi Hung Nguyen., Bing Tian Zhao., Md Yousof Ali., Jae Soo Choi., Byug Sun Min., Thi Hoai Nguyen., Mi Hee Woo. 2015. Pretein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) inhibitory constituents from the aerial parts of *Tradescantia apathacea* Sw. Fitoterapia 103: 113-121.
80. Ramírez, A., Isaza, G., Pérez, J. 2013. Especies vegetales investigadas por sus propiedades antimicrobianas, inmunomoduladoras e hipoglicemiantes en el departamento de Caldas (Colombia, Sudamerica). Biosalud, 12(1): 59-82
81. Reitter, R. 1995. Oxidative processes and antioxidative mechanisms. FASEB J. 9:526-533.
82. Resendez, A. 1996. Actividad Alelopática de Compuestos Aislados de dos Commelináceas: *Rhoeo spathacea* (Sw) Stearn Y *Zebrina pendula* Schinzlein. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. División de Estudios de Postgrado.
83. Robineau, L. 1986. Encuestas sobre Medicina Tradicional Popular en una zona rural y medicina marginal de la República Dominicana. MOSCOSO. 4: 226-265.
84. Rosales, T., De la Garza, M., Arias, C., Rodríguez, M., Fattel, S., Arce, E., Hernández, S., Villa, S. 2007. Aqueous crude extract of *Rhoeo discolor*, a Mexican medicinal plant, decreases the formation of liver preneoplastic foci in rats. Journal of ethnopharmacology. 115: 381-386.

85. Sánchez, B. 2003. Mecanismo de acción del óxido nítrico en el organismo y su acción como agente terapéutico. *Rev. Mexicana de Enfermería Cardiológica*. 11(2): 72-76.
86. Sánchez M., *et al.* 2008. Estrés y vitaminas antioxidantes en pacientes diabéticos Tipo 2. *AVFT*. 27 (1).
87. Santiago, L. 1996. Estudio fitoquímico y actividad antimicrobiana de *Rhoeo spathacea* (Sw) Staern. Universidad Autónoma de Nuevo León. Tesis.
88. Santofimia, P. 2014. Biomarcadores de la respuesta celular al estrés oxidativo en presencia de antioxidantes en varios modelos celulares. Facultad de veterinaria. Departamento de Fisiología. Universidad de Extremadura. (Tesis doctoral).
89. Segler, D. 2001. *Plant Secondary Metabolism*. Kluwer. Nueva York. 17-31.
90. Sharma, S. y Tandan, J. 1982. A dammarane triterpene from *Commelina undulata*. *Phytochemistry*. 21(9): 2420-2421.
91. Shilpa, K., Varun, K., Lakshmi, B. 2010. An alternate method of natural drug production: Eliciting secondary metabolite production using plant cellculture. *J Plant Sci* (internet). 1(5): 222-247.
92. Smith, et al. 2004. The pteridophytes of Mexico. *Memoirs of the New York. Botanical Garden* 88:1-1054.
93. Stewart, W. y Ronthwell, G. 1993. *Paaleobotany and the evolution of plants*. 2nd. Cambridge University Press. New York. *Geological Magazine*, 131(3): 424- 424.
94. Taiz, L. y Zeiger, E. 2006. *Plant Physiology*. Fourth Edition. Sinauer Associates. USA. 211-241.
95. Tandon, R., Jain, G., Khanna, N. 1982. Ecdysterone from *Forrestia mollissima* Blume Indian. *Chemistry*. 21: 265-266.
96. Tenorio, L., Fermin, A., Torres, N., Pastelín, H. y col. 2008. El óxido nítrico y las enfermedades cardiovasculares: cardioprotección versus cardiotoxicidad. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 39(3). Pp 39-48.
97. Thomson, R. 1957. *Naturally Occurring Quinones*. 1a Ed. USA. Butter Worths Scientific. pp 28-47.
98. Tolosa, L. y Cañizares, E. 2002. Obtención, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de Campeche. *Ars Pharmaceutica*. 43: 187-204.
99. Tuncyurek, P., Yenisey, F., Soyder, A., Bocakci, T., Cevikel, M. 2006. Nitric oxide as an Independent Regulatory Factor in Regenerating Rat Liver. *Acta chir belg*. 106: 581-587.
100. Van Ginkel, A. 2003. Apuntes del Máster y Diplomatura de posgrado de la UAB “Plantas Medicinales y Fitoterapia”. Módulo 2. Cultivo de plantas medicinales. Tecnología y Producción.

101. Valls, V. 2010. El papel antioxidante de los alimentos de origen vegetal. Vitaminas y Polifenoles. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia.
102. Vázquez, A., Álvarez, E., López, J., Wall, A. y De la Rosa, L. 2012. Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. Instituto de Ciencias Biomédicas. Tecnociencia Chihuahua. 6(2): 84:93
103. Venereo G. 2002. Daño oxidativo, Radicales libres y Antioxidantes. Rev Cubana de Medicina Militar. 31(2):126-133.
104. Venereo, J. 2003. Daño Oxidativo, Radicales Libres y Antioxidantes. Luis Díaz Soto". Rev. Cubana de Medicina Militar; 31(2):126-33.
105. Viñas, G., Puig, T. y Porta, R. 2012. Estrés oxidativo en pacientes con cáncer: dos caras de una misma moneda. Medicina Clínica. (Barc). 139(4):171-175.
106. Wong, Jennifer L. G.; Thornber, Kirsti & Baker, Nell. 2001. Evaluación de los recursos de productos forestales no madereros. Food Agricultural Organization, FAO. Roma. 13: 124pp.
107. Yilmaz, Y. y Toledo, R. 2006. Oxigen radical absorbance capacities of grape/ wine industry byproducts and effects of solvent on extraction of grape seed polyphenols: Journal of Food Composition and Analysis. 19: 41-44.
108. Zhang, J., Sung, K., Ann, H., Junxuan, L. 2009. Anti-cancer, anti-diabetic, and other pharmacologic and biological activities of penta-galloyl-glucose. Pharmaceutical. Research 26:1-27.
109. Zorrilla, A., Eirez, M., Izquierdo, M. 2004. Papel de los radicales libres sobre el ADN: carcinogénesis y terapia antioxidante. Rev Cubana Invest Biomed. 22 (1):51-57.

## XII. ANEXOS

### 12.1 Formulario de encuesta etnofarmacológica



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Unidad Multidisciplinaria de Investigación L. 7. P. A. Terapia Molecular

ENTREVISTA ETNOBOTANICA *Tradescantia spathacea*



Fecha: \_\_\_\_\_

Nombre del entrevistado: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_

1. ¿Con que nombre (s) conoce a la planta?  
\_\_\_\_\_
2. ¿Cuál es el uso medicinal que usted le ha dado a la planta?  
\_\_\_\_\_
3. ¿Cómo supo del uso de la planta?  
\_\_\_\_\_
4. ¿Qué parte de la planta utiliza? ¿Se usa sola o combinada? ¿Con qué planta se combina?  
\_\_\_\_\_
5. ¿Qué forma de preparación le da a la planta?  
\_\_\_\_\_
6. ¿Cómo fue la aplicación? (té, cataplasma, agua de tiempo, etc.)  
\_\_\_\_\_
7. ¿Tiene algún efecto adverso el uso de la planta?  
\_\_\_\_\_
8. ¿Cómo inicio y progreso su padecimiento?  
\_\_\_\_\_
9. ¿Cuánto duro el tratamiento con la planta y con qué frecuencia?  
\_\_\_\_\_
10. ¿Cuáles fueron sus observaciones más importantes durante el tratamiento?  
\_\_\_\_\_
11. ¿Presentó molestias durante el uso?  
\_\_\_\_\_
12. ¿Observo nuevas lesiones al término del tratamiento?  
\_\_\_\_\_
13. ¿Además de utilizar la planta, tenía otro tratamiento? ¿Cuál era?  
\_\_\_\_\_

Nota:

## 12.2 Reacciones químicas para identificación de metabolitos secundarios

### Alcaloides

Reactivo de Mayer:

Se prepara disolviendo 0.65 g  $\text{HgCl}_2$  (J.T. Baker, grado RA) en 30 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  y 2.5 g de KI (Meyer, grado RA) aforado a 50 ml. Los alcaloides se detectan a la formación de un precipitado blanco o de color crema soluble en  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$  y  $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ .

Reactivo de Dragendorf:

Se prepara mezclando 2g de  $(\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O})$  (J.T. Baker, grado RA) en 5 ml de  $\text{HNO}_3$  al 30% con una solución de 6.8 % KI (Meyer, grado RA) en 12.5 ml de  $\text{H}_2\text{O}$ . Se deja en reposo por 24 hr, se decanta y se afora a 25 ml. La presencia de alcaloides se detecta por la formación de un precipitado naranja-rojizo cuando se le adiciona el reactivo a una solución acida de alcaloides.

### Glicósidos cardiotónicos

Reactivo de Baljet:

Se prepara disolviendo 0.25g de  $\text{C}_6\text{H}_3\text{N}_3\text{O}_7$  (Meyer, grado RA) en 25 ml de  $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$  y 2.5g de NaOH (J.T. Baker, grado RA) en 25 ml de  $\text{H}_2\text{O}$ . La prueba es positiva cuando aparece una coloración o precipitado de color rojo.

Reactivo de Keller- Killiani:

Se prepara disolviendo 1 g de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Mallinckrod, G.A), 2% en  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ , se aplica 1 ml a los extractos e inmediatamente se agrega gota a gota  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , la formación de una coloración verde o parda, da positiva la prueba.

### Esteroides y triterpenos libres

Reactivo de Lieberman-Burchard:

Se prepara mezclando 1 ml de  $\text{CHCl}_3$  y 1 ml de  $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$  (Sigma, grado RA). La formación de una coloración azul – verde indica la presencia de un núcleo esteroide. Si la coloración es roja- naranja indica presencia de núcleo triterpenico.

### Flavonoides

Reacción de Shinoda:

Los extractos acuosos e hidroalcoholicos se disolvieron en  $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$  y se le adicionaron limaduras de Mg (J.T. Baker, grado RA), posteriormente se adiciono HCL gota a gota, hasta la formación de una coloración violeta, rojiza o naranja que destaca la presencia de flavonoides.

## Taninos

Reactivo de Gelatina-Sal:

Se prepara disolviendo 0.25 g de gelatina en 25 ml de H<sub>2</sub>O que contengan 10% NaCl (J.T. Baker, grado RA), la prueba da positivo si se forma un precipitado de color blanco.

Reacción de Cloruro Férrico:

A los extractos acuosos e hidroalcoholicos, se les adiciona de 2 -5 gotas de cloruro ferrico hexahidratado (Mallinckrod, G.A) al 10 %. La aparición de una coloración verde, azul o negro da positiva la prueba.

Las dos pruebas son necesarias para comprobar la presencia de taninos.

## Saponinas

Ensayo de espuma:

Consiste en agitar las muestras de extractos hasta la formación de espuma, la prueba es positiva si la espuma es estable por 15-30 min.

Reactivo Rosenthaler:

Diluir 1 g de vainillina en 100 mL de etanol y la prueba es positiva si se obtiene coloración violeta.

## Naftoquinonas y antraquinonas

Reacción Bornträger-Kraus:

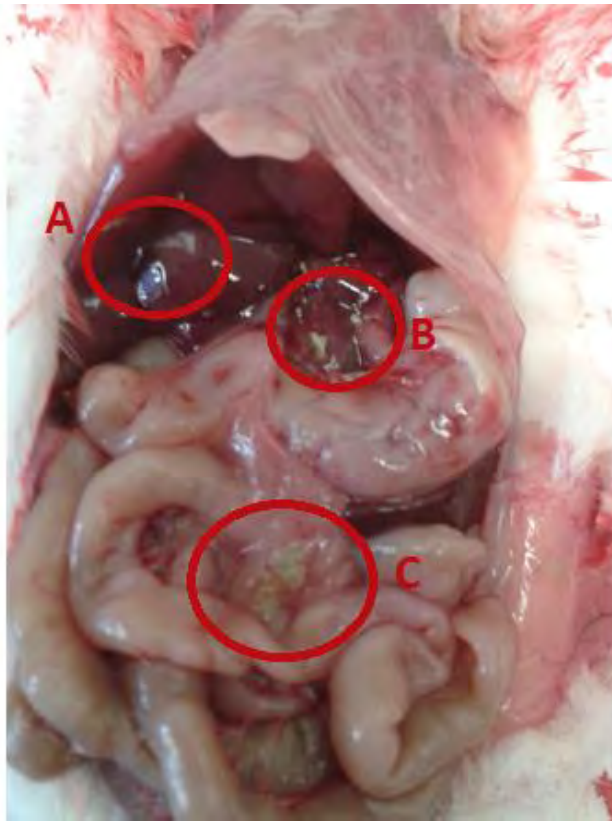
Los extractos acuosos e hidroalcoholicos se trataron con una solución de KOH (J.T. Baker, grado RA) al 5%, se filtró y acidulo con 3 gotas de HCL, se sacudió con C<sub>6</sub>H<sub>6</sub> y se dejó en reposo durante 3 h. Posteriormente se observa la separación de a fase bencénica, a la cual se añade una solución de NH<sub>4</sub>OH (J.T. Baker, grado RA) 2%. La formación de una coloración rosa al rojo intenso dará la prueba positiva.

## Cumarinas:

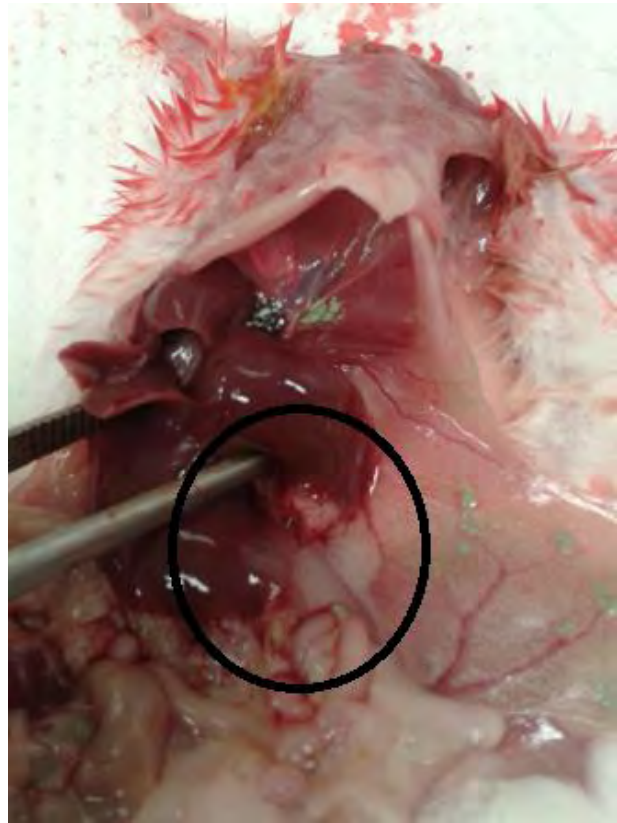
Fluorescencia:

Se agrega al extracto 0.5 ml de etanol y 2 gotas de hidróxido de amonio y la prueba es positiva si se observa fluorescencia azul violeta.

### 12.3 Fotografías de formación de tumores



**Figura 13. Acumulación de NiO**  
A y B acumulación de NiO en tejido hepático y  
C acumulación de NiO en tejido intestinal

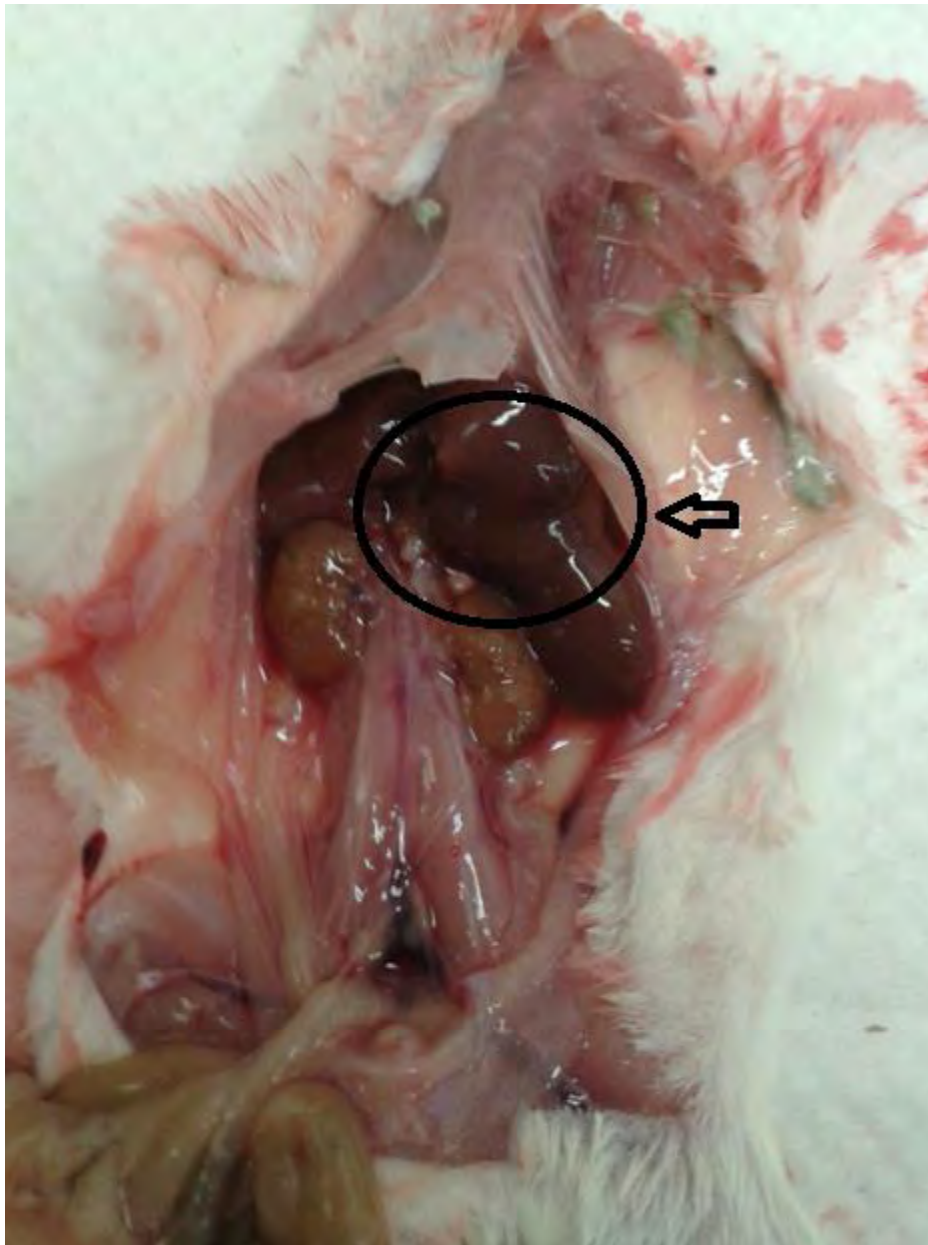


**Figura 14. Formación de tumor en hígado**



**Figura 15. Identificación de tumor en hígado**





**Figura 16. Formación de tumor en hígado.**