

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS
QUÍMICO BIOLÓGICAS**

**Identificación de plantas medicinales de la Flora del Bajío
empleadas para el tratamiento de la hipertensión y el cáncer,
determinación de su perfil químico y evaluación de sus efectos
vasodilatador y citotóxico.**

TESIS

**QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL
GRADO DE**

MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

PRESENTA:

Q.F.B. Brenda Itzel Xolalpa Vargas

DIRIGIDA POR:

Dr. César Ibarra Alvarado

CODIRIGIDA POR:

Dr. Roberto Augusto Ferriz Martínez

**QUERÉTARO
AGOSTO DE 2022
MÉXICO**



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



Identificación de plantas medicinales de la Flora del
Bajío
empleadas para el tratamiento de la hipertensión y el
cáncer,
determinación de su perfil químico y evaluación de
sus efectos
vasodilatador y citotóxico.

por

Brenda Itzel Xolalpa Vargas

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0
Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: FQMAC-227879



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICO
BIOLÓGICAS

Identificación de plantas medicinales de la Flora del Bajío empleadas para el tratamiento de la hipertensión y el cáncer, determinación de su perfil químico y evaluación de sus efectos vasodilatador y citotóxico.

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

PRESENTA:

Q.F.B. Brenda Itzel Xolalpa Vargas

DIRIGIDA POR:

Dr. César Ibarra Alvarado

CODIRIGIDA POR:

Dr. Roberto Augusto Ferriz Martínez

COMITÉ TUTORAL

Dr. Mamadou Moustapha Bah

Vocal

Dra. Alejandra Rojas Molina

Suplente

Dra. Juana Isela Rojas Molina

Suplente

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano
Directora de la Facultad de Ciencias Químicas

Dra. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Santiago de Querétaro
Septiembre de 2022

ÍNDICE GENERAL

Contenido	página
ÍNDICE GENERAL.....	i
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
ÍNDICE DE TABLAS.....	v
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	vi
ACRÓNIMOS.....	
RESUMEN.....	
ABSTRACT.....	
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Enfermedades más frecuentes a nivel mundial.....	3
2.2 Enfermedades más comunes en México.....	4
2.3 Hipertensión arterial.....	4
2.4 Medicamentos usados para el tratamiento de la hipertensión arterial.....	7
2.4.1 Diuréticos.....	7
2.4.2 Antagonistas de los receptores betaadrenérgicos.....	8
2.4.3 Bloqueadores de canales de calcio voltaje dependientes tipo L.....	9
2.4.4 Inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina	10
2.4.5 Antagonistas de los receptores alfa 1 adrenérgicos.....	11
2.4.6 Antagonistas de los receptores de la angiotensina II.....	11
2.5 Cáncer.....	12
2.6 Medicamentos para el tratamiento del cáncer.....	13
2.6.1 Agentes alquilantes.....	14
2.6.2 Antimetabolitos.....	15
2.6.3 Antibióticos antitumorales.....	16

2.6.4 Inhibidores de la topoisomerasa.....	16
2.6.5 Inhibidores de la mitosis.....	17
2.7 Alternativas de origen natural.....	17
2.8 Medicina tradicional de México.....	20
2.9 Características de la flora en la región del centro de México y regiones adyacentes.....	21
3. JUSTIFICACIÓN.....	24
4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	25
5. HIPÓTESIS.....	26
6. OBJETIVOS.....	27
6.1 Objetivo general.....	27
6.2 Objetivos específicos.....	27
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
7.1 Búsqueda bibliográfica.....	28
7.2 Elaboración de la base de datos digital.....	29
7.3 Preselección de especies para el estudio farmacológico.....	29
7.4 Selección de especies para el estudio farmacológico.....	30
7.5 Reactivos y productos químicos.....	30
7.6 Material vegetal.....	30
7.7 Líneas celulares de cáncer y cultivo celular.....	30
7.8 Animales de experimentación.....	31
7.9 Preparación de los extractos empleados para la evaluación farmacológica.....	31
7.10 Determinación del efecto vasodilatador: ensayo de aorta aislada de rata.....	32
7.11 Disolución de los extractos obtenidos para ensayos de proliferación.....	32
7.12 Efecto antiproliferativo de los extractos por el método de MTT....	33

7.13 Análisis químico de los extractos de diclorometano de las especies seleccionadas, mediante Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas con detector de Tiempo de Vuelo (CG-EM/QTOF).....	34
7.14 Análisis estadístico.....	35
8. RESULTADOS.....	36
8.1 Búsqueda bibliográfica de los usos medicinales y efectos farmacológicos de la flora del Bajío.....	36
8.2. Elaboración de la base de datos digital.....	41
8.3. Preselección de especies para el estudio farmacológico.....	42
8.4. Selección de especies para el estudio farmacológico.....	43
8.5. Preparación de los extractos empleados para la evaluación farmacológica.....	46
8.6. Determinación del efecto vasodilatador de los extractos obtenidos por el ensayo de aorta aislada de rata.....	47
8.7. Efecto antiproliferativo por el método de MTT.....	53
8.7.1 Curva de proliferación en células de cáncer de mama MDA-MB-231.....	53
8.7.2 Curva de proliferación en células de cáncer de colon HT-29.....	57
8.7.3 Comparación del efecto antiproliferativo en las líneas MDA-MB-231 y HT-29.....	61
8.8. Análisis químico por CG-EM/QTOF de los extractos de diclorometano de las tres especies vegetales seleccionadas.....	62
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	77
9.1 Búsqueda bibliográfica de los usos medicinales y efectos farmacológicos de la flora del Bajío.....	77
9.2. Elaboración de la base de datos digital.....	85
9.3. Selección de especies para su estudio farmacológico.....	86

9.4. Preparación de los extractos empleados para la evaluación farmacológica.....	88
9.5. Determinación del efecto vasodilatador de los extractos obtenidos por el ensayo de aorta aislada de rata.....	89
9.6. Curva de proliferación en células de cáncer de mama MDA-MB-231 y células de cáncer de colon HT-29.....	91
9.7. Análisis químico de los extractos de diclorometano CG-EM/QTOF.	94
10. CONCLUSIONES.....	98
11. REFERENCIAS.....	100

ÍNDICE DE FIGURAS

Nombre y explicación.	Página
Figura 1. Reacción esquemática de la conversión de MTT a Formazán mediante la acción de la enzima reductasa mitocondrial.....	34
Figura 2: Número de especies con potencial medicinal en las familias botánicas de la región del Bajío.....	37
Figura 3. A. Gráfico de pastel que representa la distribución de las especies en los diferentes municipios del Estado de Querétaro; B. Mapa geográfico donde se muestra la distribución de las especies por número de estas en cada municipio del Estado de Querétaro.....	38
Figura 4. Gráfico que muestra el porcentaje de los usos medicinales reportados para las especies de la flora del Bajío.....	40
Figura 5. Gráfico que muestra el porcentaje de especies evaluadas por un método científico para comprobar su uso medicinal y efectos farmacológicos.....	40
Figura 6. Gráfico que muestra la distribución de los efectos farmacológicos validados para las especies comprendidas en la región del Bajío.....	41
Figura 7: Portada de la página Web creada.....	42
Figura 8. Horno utilizado para el secado de las especies vegetales, ubicado en las instalaciones del herbario Jerzy Rzedowski (QMEX), Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México. La especie mostrada en la imagen corresponde a <i>Piper commutatum</i>	46

Figura 9: A. Esquema de extracción por el método Soxhlet, mediante procesos simultáneos. B Esquema de rotoevaporación para concentrar los extractos obtenidos.....	47
Figura 10. Efecto vasodilatador de los extractos obtenidos de <i>Malvastrum coromandelianum</i>	49
Figura 11. Efecto vasodilatador de los extractos obtenidos de <i>Malvastrum bicuspidatum</i>	50
Figura 12. Efecto vasodilatador de los extractos obtenidos de <i>Piper commutatum</i>	51
Figura 13. Curvas concentración-respuesta de los 6 extractos evaluados.	52
Figura 14. Gráfico comparativo de las CE ₅₀ de cada extracto correspondiente a su efecto vasodilatador evaluado con el ensayo de aorta aislada de rata.....	52
Figura 15. Efecto del extracto de <i>Malvastrum bicuspidatum</i> sobre la proliferación de células MDA-MB-231 con 24 horas de tratamiento.....	54
Figura 16. Efecto del extracto de <i>Malvastrum coromandelianum</i> en la proliferación de células MDA-MB-231 con 24 horas de tratamiento.....	55
Figura 17. Efecto del extracto de <i>Piper commutatum</i> en la proliferación de células MDA-MB-231 con 24 horas de tratamiento.....	56
Figura 18. Efecto del extracto de <i>Malvastrum bicuspidatum</i> sobre la proliferación de células HT-29 con 24 horas de tratamiento.....	58
Figura 19. Efecto del extracto de <i>Malvastrum coromandelianum</i> en la proliferación de células HT-29 con 24 horas de tratamiento.....	59
Figura 20. Efecto del extracto de <i>Piper commutatum</i> en la proliferación de células HT-29 con 24 horas de tratamiento.....	60

Figura 21. Gráfico que muestra la comparativa de las CI_{50} de los 6 extractos evaluados en la línea celular de cáncer de colon HT-29 y las células de cáncer de mama MDA-MB-231.....	61
Figura 22. Cromatograma correspondiente al extracto de diclorometano de <i>Malvastrum coromandelianum</i> ; las letras corresponden al ID mostrado en la tabla 4 como parte de la señalización de los metabolitos elucidados..	63
Figura 23. Cromatograma correspondiente al extracto de diclorometano de <i>Malvastrum bicuspidatum</i> ; las letras corresponden al ID mostrado en la tabla 5 como parte de la señalización de los metabolitos elucidados....	68
Figura 24. Cromatograma correspondiente al extracto de diclorometano de <i>Piper commutatum</i> ; las letras corresponden al ID mostrado en la tabla 6 como parte de la señalización de los metabolitos elucidados.....	70
Figura 25. Mapa de México donde se remarca la región del Bajío (INEGI, 2019).....	77
Figura 26. Sitios de colecta de especies de la familia Asteraceae registradas en la región del Bajío y zonas adyacentes (Ferriol, 2015).....	79

INDICE DE TABLAS

Nombre y explicación.	Página
Tabla 1. Preselección de especies con uso medicinal.....	43
Tabla 2. Características generales de las 6 especies candidatas para evaluación farmacológica.....	44
Tabla 3. Rendimiento de los extractos obtenidos por el método de Soxhlet.....	47
Tabla 4. Metabolitos encontrados en el extracto de diclorometano de la planta <i>Malvastrum coromandelianum</i> por CG-MS.....	62
Tabla 5. Metabolitos encontrados en el extracto de diclorometano de la planta <i>Malvastrum bicuspidatum</i> por CG-MS.....	69
Tabla 6. Metabolitos encontrados en el extracto de diclorometano de la planta <i>Piper commutatum</i> por CG-MS.....	71

ACRÓNIMOS

ENT	Enfermedades no transmisibles
HTA	Hipertensión arterial
ECA	Enzima Convertidora de Angiotensina
RHNM	Reporte Histopatológico de las Neoplasias Malignas
OMS	Organización Mundial de la Salud
ARA	Antagonistas de los Receptores de Angiotensina
VLDL	Lipoproteína de muy baja densidad
HDL	Lipoproteína de alta densidad
IECA	Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina
LDL	Lipoproteína de baja densidad
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
OPS	Organización Panamericana de la Salud
CONABIO	Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad
DOF	Diario Oficial de la Federación
CENIDSP	Centro Nacional de Información para Decisiones en Salud Pública
INSP	Instituto Nacional de Salud Pública
CONAPO	Consejo Nacional de Población
ECV	Enfermedades cardiovasculares

RESUMEN

Las enfermedades no transmisibles (ENT) son la principal causa de muerte en todo el mundo. Entre estas enfermedades se encuentran las cardiovasculares (ECV) y el cáncer (OMS, 2020). De acuerdo con un estudio preliminar reportado por el CENIDSP en febrero del 2020, las ECV (20.1 %) y el cáncer (12 %) constituyen dos de las principales causas de muerte en la población general de México. Desde el punto de vista epidemiológico, la hipertensión arterial (HTA) es el factor de riesgo cardiovascular más prevalente en el mundo, afectando al 26 % de la población adulta (Martins y col., 2016). Los medicamentos que se tienen en la actualidad para tratar la HTA y el cáncer carecen de efectividad y presentan efectos secundarios graves (Martins y col., 2016). Debido a esta problemática es importante la búsqueda de fármacos alternativos más eficaces con menos efectos secundarios. Una de las estrategias más prometedoras para la obtención de nuevas moléculas útiles para el tratamiento de estas enfermedades son las plantas medicinales. Según la CONABIO, México posee alrededor de 4,000 especies de plantas con propiedades medicinales, de las cuales se estima que sólo el 6.25 % han sido validadas científicamente (Fierro, 2016). En la zona centro y regiones adyacentes de México, se encuentran alrededor de 395 especies agrupadas en 118 familias botánicas, de las cuales la mayoría no cuentan con información actualizada sobre sus usos medicinales e investigaciones científicas que las respalden. Por esta razón, el objetivo de este trabajo fue realizar una revisión bibliográfica exhaustiva para elaborar una compilación de especies vegetales de esta zona de nuestro país y evaluar los efectos vasodilatador y antineoplásico de sus extractos metanólicos y de diclorometano. Como resultados obtuvimos que las familias que cuentan con mayor número de especies con potencial de uso medicinal son: Fabaceae (46 especies), Compositae (Asteraceae, 31 especies), Verbenaceae (27 especies), Solanaceae (17 especies) y Apocynaceae (12 especies). Los principales usos medicinales de estas especies incluyen tratamiento de desórdenes gastrointestinales (14.67 %), dolor (10.94 %), enfermedades infecciosas (10.81 %), enfermedades cutáneas (10.81 %) y diabetes (10.3 %) y los principales efectos

farmacológicos reportados y validados científicamente son antimicrobiano (21.5 %), anticanceroso (13.4 %), antioxidante (12.1 %), antiinflamatorio (9.1 %) y analgésico (6.0 %). La información de las 395 especies se tiene almacenada en la página “Flora queretana”, elaborada por nuestro equipo de trabajo con fines de divulgación científica, además de ser el resguardo de este importante acervo cultural del Estado y del País. En cuanto a las actividades farmacológicas evaluadas, se determinó por primera vez que las tres especies vegetales seleccionadas *M. coromandelianum*, *M. bicuspidatum*, *P. commutatum* relajan la musculatura lisa arterial de rata y presentan un efecto antiproliferativo en células de cáncer de mama MDA-MB-231 y células de cáncer de colon HT-29. Los metabolitos reportados para los extractos de diclorometano, obtenidos por CG-EM/QTOF, nos muestran una variación de compuestos entre especies de diferente o, incluso del mismo género, lo cual sugiere una variabilidad de rutas biosintéticas las cuales, debido a la enorme complejidad del metabolismo y las condiciones (entorno) donde las especies se desarrollan, dan lugar a diferentes tipos de metabolitos secundarios.

Palabras clave: plantas medicinales de la zona centro y regiones adyacentes de México, efecto vasodilatador, efecto citotóxico, rastreo farmacológico.

ABSTRACT

Noncommunicable diseases (NCDs) are the leading cause of death worldwide. Among these diseases are cardiovascular diseases (CVD) and cancer (WHO, 2020). According to a preliminary study reported by CENIDSP in February 2020, CVD (20.1%) and cancer (12%) constitute two of the main causes of death in the general population of Mexico. From an epidemiological point of view, arterial hypertension (HBP) is the most prevalent cardiovascular risk factor in the world, affecting 26% of the adult population (Martins et al., 2016). Medications currently used to treat hypertension and cancer are ineffective and have serious side effects (Martins et al., 2016). Due to this problem, it is important to search for more effective alternative drugs with fewer side effects. One of the most promising strategies for obtaining new molecules useful for the treatment of these diseases are medicinal plants. According to CONABIO, Mexico has around 4,000 plant species with medicinal properties, of which it is estimated that only 6.25% have been scientifically validated (Fierro, 2016). In the central zone and adjacent regions of Mexico, there are around 395 species grouped into 118 botanical families, of which most do not have updated information on their medicinal uses and scientific research to support them. For this reason, the objective of this work was to carry out an exhaustive bibliographic review to make a compilation of plant species from this area of our country and to evaluate the vasodilator and antineoplastic effects of their methanolic and dichloromethane extracts. As results, we obtained that the families that have the greatest number of species with potential for medicinal use are: Fabaceae (46 species), Compositae (Asteraceae, 31 species), Verbenaceae (27 species), Solanaceae (17 species) and Apocynaceae (12 species). The main medicinal uses of these species include treatment of gastrointestinal disorders (14.67%), pain (10.94%), infectious diseases (10.81%), skin diseases (10.81%) and diabetes (10.3%) and the main pharmacological effects reported and scientifically validated are: antimicrobial (21.5%), anticancer (13.4%), antioxidant (12.1%), anti-inflammatory (9.1%) and analgesic (6.0%). The information on the 395 species is stored on the "Flora

queretana" page, prepared by our work team for scientific dissemination purposes, in addition to being the safeguard of this important cultural heritage of the State and the Country. Regarding the pharmacological activities evaluated, it was determined for the first time that the three selected plant species *M. coromandelianum*, *M. bicuspidatum* and *P. commutatum* relax rat arterial smooth muscle and have an antiproliferative effect on MDA-MB-231 breast cancer cells and HT-29 colon cancer cells. The metabolites reported for dichloromethane extracts, obtained by GC-MS/QTOF, show us a variation of compounds between species of different or even of the same genus, which suggests a variability of biosynthetic routes which, due to the enormous complexity of the metabolism and the conditions (environment) where the species develop, give rise to different types of secondary metabolites.

Keywords: medicinal plants of the central zone and adjacent regions of Mexico, vasodilator effect, cytotoxic activity, pharmacological screening.

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades no transmisibles (ENT) son la principal causa de muerte en todo el mundo. Los datos recopilados demuestran que el 63 % de las muertes son causadas por este tipo de enfermedades (OMS, 2020). Las ECV y el cáncer constituyen el 20.1 y el 12 % respectivamente, siendo dos de las principales causas de muerte en la población general de México (OMS, 2020). Desde el punto de vista epidemiológico, la hipertensión arterial (HTA) es el factor de riesgo cardiovascular más prevalente en el mundo (OMS, 2020) y se caracteriza por un incremento en la presión de la sangre sobre las paredes de las arterias (OMS, 2017). Por otro lado, el cáncer se puede clasificar según el tipo de célula de la que se origine; los tres grupos principales son carcinomas (epitelio), sarcomas (tejido conectivo, músculo, huesos, cartílagos y tejido fibroso) y leucemia o linfomas (células formadoras de sangre y del sistema inmunológico). En México, los tumores malignos ocupan el cuarto lugar de causas de muerte con un total de 90,604 defunciones en el 2020 (INEGI, 2021).

Actualmente, los fármacos disponibles para el tratamiento de la HTA (diuréticos, β -bloqueadores, inhibidores de la ECA, bloqueadores de canales de calcio, entre otros) sólo consiguen controlarla en menos de un tercio de los pacientes (Bover-Freire y Moreno-González, 2010). De manera similar, los fármacos antineoplásicos (agentes alquilantes, antimetabolitos, derivados de platino, hormonas y antagonistas hormonales, isótopos radiactivos, interferones, interleucinas y anticuerpos monoclonales) no logran ser selectivos, dañando células normales y células malignas indistintamente (Gago-Banderas, 2018). En particular, los tratamientos oncológicos pueden generar problemas psicopatológicos en los pacientes, así como pérdida de cabello, debilidad muscular y anemia (ACS, 2016).

En este contexto, es necesario buscar nuevas alternativas terapéuticas que presenten menores efectos adversos y mayor eficacia. Una alternativa prometedora es el uso de plantas medicinales, las cuales son utilizadas en los sistemas médicos tradicionales del mundo (Chen y col., 2016). Según la CONABIO, alrededor de 4,000 especies de plantas con flores tienen atributos medicinales, es decir, que una de

cada siete especies posee alguna propiedad curativa. Sin embargo, se estima que solamente un 6.25 % de estas especies han sido objeto de estudios químicos, farmacológicos o biomédicos (Fierro, 2016).

El estado de Querétaro participa de manera importante en esta diversidad (Martínez y col., 2016), ya que se estima que su flora consta de alrededor de 3,500 especies de plantas vasculares (Martínez y col., 2016). En el estado de Querétaro existen lugares donde se siguen empleando plantas medicinales de manera tradicional para el tratamiento de diversas enfermedades. Las familias con mayor número de especies de uso medicinal en la zona de Querétaro son: Asteraceae, Labiatae, Leguminosae y Solanaceae (Nava-Fernández y Zamora-Ramos, 2001).

A pesar de que nuestro país cuenta con una amplia tradición y una gran riqueza de plantas medicinales, las cuales se ha venido utilizando para tratar enfermedades desde tiempos prehispánicos, numerosas propiedades curativas son aún desconocidas. Por esta razón, en el presente proyecto, se plantea realizar una revisión bibliográfica exhaustiva para elaborar una compilación de especies vegetales de la zona centro y regiones adyacentes de México y evaluar los efectos vasodilatador y antineoplásico de tres especies seleccionadas con base en su uso etnomédico y la ausencia de estudios científicos que corroboren sus usos medicinales.

Los resultados de estos experimentos permitirán identificar especies vegetales que contengan metabolitos secundarios prometedores, potencialmente útiles para tratar la HTA y el cáncer.

2. ANTECEDENTES

2.1 Enfermedades más frecuentes a nivel mundial.

Las enfermedades no transmisibles (ENT) son la principal causa de muerte en todo el mundo (OMS, 2020). Los datos disponibles indican que casi el 80 % de las muertes por ENT ocurren en los países de ingresos bajos y medios (OMS, 2020). De los 57 millones de defunciones que se produjeron en todo el mundo en 2008, 36 millones se debieron a ENT, entre las que se encuentran las enfermedades cardiovasculares (ECV) y el cáncer (Soto-Estrada y col., 2016). Alrededor de una cuarta parte de las muertes causadas por las ENT a nivel mundial afecta a personas menores de 60 años (OMS, 2020). El desarrollo de estas enfermedades se debe en gran medida a cuatro factores de riesgo que se han afianzado de forma generalizada como parte de la transición económica, los rápidos procesos de urbanización y el estilo de vida del siglo XXI: el consumo de tabaco, las dietas nocivas, la inactividad física y el abuso del alcohol (Soto-Estrada y col., 2016).

Estos factores de riesgo afectan principalmente a países de ingresos bajos y medios y a las personas más pobres en todos los países, como reflejo de los determinantes socioeconómicos subyacentes (Soto-Estrada y col., 2016). Con el aumento del impacto de las ENT y el envejecimiento de la población, se prevé que el número de muertes por este tipo de enfermedades en el mundo seguirá creciendo cada año (OMS, 2020). Se estima que la hipertensión causa 7.5 millones de muertes, lo que representa alrededor del 12.8 % del total y constituye un factor de riesgo muy importante para el desarrollo de otras ECV (Bover-Freire y Moreno-González, 2010).

Por otra parte, el cáncer es una de las causas principales de muerte en el mundo, se registraron casi 10 millones de decesos en el 2020, ocupando así el segundo lugar a nivel mundial (OMS, 2021). Asimismo, se reconocieron 20 millones de casos nuevos en el mundo y se estima que el cáncer aumentará en un 60% durante los próximos 20 años, donde el mayor crecimiento sucederá en países de ingresos bajos y medianos (OPS, 2021).

2.2 Enfermedades más comunes en México.

En México, las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de muerte. Las defunciones causadas por este tipo de enfermedades en 2020 fueron de 218,704, siendo las enfermedades coronarias las principales responsables (76.3 %), seguida de la hipertensión arterial con una incidencia del 15.6%; las muertes relacionadas con la circulación pulmonar y otras enfermedades del corazón corresponden a un 7.8 %. El 0.3 % restante se atribuye a fiebre reumática aguda y cardiopatía crónica (INEGI, 2021).

Con respecto al cáncer o tumores malignos, se estima que esta enfermedad representa la cuarta posición de las principales causas de muerte con 90,603 fallecimientos durante el 2020. Esta patología ocupa los primeros lugares de incidencia en todos los grupos de edad y sexo indistintamente. Entre las defunciones provocadas por tumores malignos, sobresalen los de órganos digestivos (32.7 %), los de órganos genitourinarios (24.2 %) y los de hueso, de cartilago articular, de tejido conjuntivo, de piel y de mama (13.6 %) (INEGI, 2021).

Las ECV comparten algunos factores de riesgo que es esencial atender, dentro de los que destacan el sobrepeso y la obesidad, que afecta a por lo menos 70 % de la población de 20 años o más (INSP, 2018).

En el caso del cáncer, alrededor de un tercio de las muertes se deben al consumo de tabaco, un índice de masa corporal elevado, al consumo de alcohol, a una baja ingesta de frutas y verduras, y a la falta de ejercicio (OMS, 2021).

2.3 Hipertensión arterial.

La hipertensión arterial (HTA) es una afección en la que la presión de la sangre sobre las paredes de las arterias se encuentra por arriba de los parámetros normales (Borbolla, 2018). Desde el punto de vista epidemiológico, la HTA es el factor de riesgo cardiovascular más prevalente en el mundo. Se estima que 1.28 millones de adultos de 30 a 79 años en todo el mundo tienen hipertensión y dos tercios de éstos viven en países de ingresos bajos y medios (OMS, 2021). La prevalencia de esta patología incrementa con la edad y los factores de riesgo como

dietas altas en sal, consumo de alcohol y tabaco y sedentarismo, lo que da como resultado que incluso adultos jóvenes padezcan HTA. El incremento de adultos mayores hipertensos se ha elevado a una tasa porcentual aproximada del 60 %. De esta manera, dos terceras partes de los hombres y una tercera parte de las mujeres con una edad de 55 años y una presión normal desarrollarán hipertensión al llegar a los 70 años, por lo que se estima que, con el envejecimiento de la población en el 2025, la HTA afectará a 1500 millones de personas y para el 2050, alrededor del 20 % de la población mundial será mayor de 80 años y con ello ocurrirá un incremento lineal en la prevalencia de HTA (Borbolla, 2018). En México, la HTA constituye uno de los problemas de salud más importantes debido a sus complicaciones cardíacas y cerebrales, convirtiéndose en una de las principales causas de riesgo de morbilidad y mortalidad (López-López, 2019). De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, en 2020, el 33 % de los adultos mexicanos tenían HTA y de ellos, al menos el 50 % no habían sido diagnosticados hasta el momento de participar en la ENSANUT 2020 (Campos- Nonato y col., 2021). De acuerdo con la OMS, se estima que el 46 % de los adultos con HTA no saben que tienen la afección y solamente 1 de cada 5 adultos con hipertensión la tienen bajo control (OMS, 2021).

La HTA es más frecuente conforme avanza la edad, ya que con el envejecimiento, se incrementan los lípidos en las fibras de elastina de las arterias y, como consecuencia, se genera el incremento de depósitos de calcio en éstas; además hay un incremento del grosor de la capa media arterial, produciéndose hipertrofia e hiperplasia de las células musculares lisas, esto a su vez, ocasiona el aumento en la síntesis de colágeno y de la actividad de las elastasas que conlleva a la destrucción de la elastina, incrementando el índice colágeno/elastina, lo cual aumenta la rigidez de las arterias. Al perderse la elasticidad, se conduce la sangre desde el corazón por vasos sanguíneos rígidos directamente a la periferia, aumentando la presión sistólica y provocando una brusca caída de la presión diastólica (Borbolla, 2018). Estos cambios vasculares son responsables de la destrucción focal de las nefronas y de la progresión a nefroesclerosis. En personas mayores de 80 años puede afectar hasta el 40% de los glomérulos. Con el tiempo

también se pierde efectividad en el funcionamiento tubular, con afectación de la capacidad de reabsorción tubular de glucosa y fosfato, así como dificultad en el asa de Henle para retener el sodio y el potasio (Martins y col., 2016). En personas de la tercera edad, se observa la disminución de la actividad del sistema renina-angiotensina-aldosterona. Los bajos niveles de renina provocan inadecuada respuesta a los diuréticos, así como a los cambios de posición (Borbolla, 2018). Asimismo, la noradrenalina plasmática aumenta con la edad, disminuyendo la sensibilidad del vaso sanguíneo por pérdida de los receptores adrenérgicos; estas modificaciones son responsables de los cambios bruscos de tensión arterial con las variables posturales, la pérdida de pequeños volúmenes plasmáticos y efectos inesperados con el empleo de los fármacos antihipertensivos (Borbolla, 2018).

Se considera que una persona sufre de HTA cuando su tensión arterial sistólica es igual o mayor de 140 mm Hg y su tensión arterial diastólica es mayor o igual a 90 mm Hg. La presencia de estos valores en los pacientes es tomada como criterio para el diagnóstico inicial de la HTA, sin importar edad y sexo (Sierra y col., 2013).

Se desconocen las causas de la presión arterial alta. Sin embargo, se considera que es el resultado de varios factores genéticos y ambientales que se combinan para influir en el sistema cardiovascular y la estructura renal (Martins et al., 2016). Los factores de riesgo no modificables asociados de forma independiente con la hipertensión arterial sistémica primaria son: edad avanzada, antecedentes familiares y etnia, siendo la raza negra, más propensa a desarrollar la enfermedad de forma más grave, con más complicaciones de órganos diana, seguido por asiáticos y caucásicos.

Los factores de riesgo modificables asociados con la hipertensión arterial sistémica esencial son: obesidad, dieta con alto contenido de sodio, consumo de alcohol en exceso, inactividad física, diabetes y dislipidemia, reducción en el número de nefronas, enfermedad renal aguda o crónica, personalidad depresiva o depresión y en algunos estudios poblacionales tipo meta-análisis, la deficiencia de vitamina D también parece estar asociada con un incremento en el riesgo de desarrollar hipertensión (Borbolla, 2018).

2.4 Medicamentos usados para el tratamiento de la hipertensión arterial.

La hipertensión es una patología crónica no curable, que debe ser sometida a tratamiento de por vida y que es susceptible de provocar alteraciones a mediano y largo plazo en función del paciente (López-López, 2019). El arsenal terapéutico de fármacos antihipertensivos es en la actualidad muy amplio y comprende diferentes familias de fármacos con diversos mecanismos de acción. Las seis familias de fármacos consideradas como medicamentos de primera línea por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Sociedad Internacional de Hipertensión son: los diuréticos, los bloqueadores betaadrenérgicos, los antagonistas del calcio, los inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina, los bloqueadores alfa y los antagonistas de los receptores de la angiotensina II. La preferencia en la utilización de cada una de dichas familias se establece en función de diversos parámetros tales como el costo, la presencia de enfermedades asociadas, la efectividad, los efectos secundarios, la tolerancia o el impacto sobre la calidad de vida (Camm y col., 2018). Los fármacos disponibles mencionados anteriormente, sólo consiguen un control adecuado de la HTA en menos de un tercio de los pacientes en países desarrollados, pero no curan la enfermedad. La mayoría de los medicamentos antihipertensivos tienen efectos secundarios, entre los que se encuentran: tos, diarrea o estreñimiento, vértigo, mareo leve, entre otros (Martins y col., 2016).

2.4.1. Diuréticos.

Los diuréticos tienen la ventaja de ser prácticos y económicos, aunque su prescripción es limitada por sus efectos secundarios y recientemente han sido sustituidos por otros grupos farmacológicos. Sin embargo, los diuréticos todavía se consideran fármacos de primera línea para el tratamiento de la hipertensión, ya que numerosos estudios controlados corroboran su capacidad para reducir la morbimortalidad cardiovascular asociada con la HTA.

Existen tres subgrupos de diuréticos:

- Las tiazidas actúan principalmente en la porción proximal del túbulo contorneado distal, inhibiendo el cotransporte Na^+ y Cl^- , aumentando la excreción urinaria de estos iones (Cordero-Sánchez, 2017).
- Los diuréticos del asa de Henle ejecutan su función en la zona medular de la rama ascendente del asa de Henle. Su mecanismo de acción consiste en la inhibición del cotransporte Na^+ , K^+ y Cl^- , con lo que se bloquea la reabsorción activa de sodio (Cordero-Sánchez, 2017).
- Espironolactona y amilorida. La espironolactona es un antagonista de los receptores de la aldosterona, por lo que inhibe la reabsorción de sodio en el túbulo distal. Este fármaco tiene, además, propiedades antifibróticas y antiproliferativas, derivadas del bloqueo de la acción de la aldosterona, a nivel cardíaco y vascular. Por otra parte, la amilorida es utilizada únicamente en asociación con tiazidas para evitar la hipopotasemia. (Cordero-Sánchez, 2017).

Los efectos secundarios de los diuréticos son relativamente frecuentes, especialmente en lo que respecta a la bioquímica, lo que limita su uso pese a su bajo costo. Los más importantes son la hipopotasemia con diuréticos tiazídicos o del asa; la hiperpotasemia con la utilización de antialdosterónicos, especialmente si se utilizan en combinación con IECA, ARA II o en pacientes con deterioro de la función renal; la hipomagnesemia, por pérdidas urinarias de este catión; la hiperuricemia con los diuréticos tiazídicos que interfieren en la secreción tubular; la hiperglucemia, con tiazidas a dosis elevadas o la hiperlipidemia, la impotencia y la disminución de la libido con diuréticos del asa de Henle (Cruz-Aranda, 2018).

2.4.2 Antagonistas de los receptores betaadrenérgicos.

Los antagonistas de los receptores betaadrenérgicos, conocidos comúnmente como bloqueadores beta, reducen la presión arterial en pacientes hipertensos. Estos compuestos disminuyen el gasto cardíaco, inhiben la secreción de renina en el aparato yuxtglomerular, inducen efectos hipotensores sobre el sistema nervioso central, reducen la sensibilidad de los barorreceptores, aumentan la secreción de

prostaglandinas y otros péptidos vasodilatadores, y disminuyen el calcio libre citosólico (do Vale y col., 2019).

El uso de los bloqueadores de receptores betaadrenérgicos se encuentra limitado por los siguientes efectos secundarios:

- Acción sobre el corazón: la bradicardia y la depresión de la conducción AV que puede desencadenar o agravar un cuadro de insuficiencia cardíaca al inicio del tratamiento, a pesar de que a la larga el efecto es beneficioso (Grandi y Ripplinger, 2019).
- A nivel pulmonar: pueden provocar broncoespasmo en pacientes asmáticos o con enfermedad pulmonar obstructiva crónica por bloqueo de los receptores β_2 bronquiales (Grandi y Ripplinger, 2019).
- En el sistema vascular periférico: el bloqueo de los receptores β_2 de la pared vascular causa vasoconstricción (Grandi y Ripplinger, 2019).
- En el sistema nervioso central: los bloqueadores beta-liposolubles, que son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica, pueden provocar trastornos del sueño, como pesadillas o alucinaciones, depresión o alteraciones sexuales (Grandi y Ripplinger, 2019).
- A nivel metabólico: el bloqueo de receptores beta puede reducir la actividad de las lipoproteinlipasas, dando lugar a un aumento de las VLDL y de los triglicéridos, así como un descenso del HDL, lo que podría empeorar el perfil aterogénico de algunos pacientes (Grandi y Ripplinger, 2019).

2.4.3 Bloqueadores de canales de calcio voltaje dependientes tipo L.

Existen tres grupos principales de bloqueadores de canales de calcio voltaje dependientes tipo L: las fenilalquilaminas (verapamilo), las benzotiazepinas (diltiazem) y las dihidropiridinas (nifedipino). Mientras que las dos primeras familias poseen acciones cardíacas, electrofisiológicas y vasculares, el último grupo tiene un efecto predominantemente vascular (Camm y col., 2018). El mecanismo de acción de estos fármacos consiste en la inhibición de los canales de calcio dependientes del potencial de membrana y en el consecuente bloqueo de la entrada de calcio al interior de la célula. La disminución de la concentración de calcio libre

citosólico en las células musculares lisas arteriolares, produce la decadencia de la contractilidad del corazón, de la resistencia vascular y de la presión arterial (PA) (Gandía y col., 2017)

A nivel vascular, los bloqueadores de canales de calcio tipo L mejoran la distensibilidad arterial de vasos de mayor calibre. También inhiben la agregación plaquetaria con una potencia similar al dipiridamol, probablemente por bloqueo de la entrada de calcio en la plaqueta. Los bloqueadores de canales de calcio tienen un efecto neutro sobre el metabolismo hidroelectrolítico, hidrocarbonado y lipídico (Jiménez y Mora, 2020).

Su desventaja principal consiste en la usual aparición de efectos secundarios leves en el 33.3 % los pacientes. Dichos efectos secundarios se derivan de la vasodilatación cutánea y se manifiestan principalmente por cefalea, sofocación y edemas maleolares. Los dos primeros efectos han ido disminuyendo en frecuencia con la comercialización de las nuevas dihidropiridinas de vida media más larga, aunque los edemas maleolares siguen siendo una causa que obliga a la suspensión del tratamiento en casi un 10 % de los pacientes (Camm y col., 2018).

2.4.4 Inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina.

Los inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (IECA) inhiben la formación de angiotensina II a partir de la angiotensina I. Los IECA producen, asimismo, una disminución de la secreción de aldosterona inducida por la angiotensina II e impiden la degradación de bradiquinina, aumentando los valores de dicho péptido vasodilatador (Mann, 2019).

Los IECA son actualmente considerados fármacos de primer orden en el tratamiento de la HTA y han demostrado su capacidad de prevenir episodios cardiovasculares en pacientes hipertensos (Mann, 2019).

Los IECA están contraindicados durante el embarazo y la lactancia y deben utilizarse con extrema precaución en la HTA vascularrenal, dado que pueden precipitar un fracaso renal agudo en individuos monorrenos o con estenosis bilateral de la arterial renal. Los efectos secundarios de los IECA son principalmente la

aparición, en algunos pacientes, de tos seca, cuyo mecanismo es en la actualidad desconocido, aunque podría estar relacionado con la liberación de bradiquinina (Camm y col., 2018).

2.4.5 Antagonistas de los receptores alfa 1 adrenérgicos.

Actualmente, el único antagonista de los receptores alfa 1 útil en el tratamiento de la HTA es la doxazosina, que actúa específicamente sobre los receptores alfa 1 adrenérgicos. Este fármaco tiene la ventaja de producir una disminución del colesterol proveniente de las lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) y de los triglicéridos, y un aumento del colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (c-HDL), así como de mejorar la resistencia a la insulina y la sintomatología debida a la hiperplasia benigna de próstata. Los bloqueadores alfa 1 pueden utilizarse en monoterapia o asociados a diuréticos, bloqueadores beta, antagonistas del calcio, IECA y antagonistas de los receptores de la angiotensina II. La principal desventaja de la utilización de la doxazosina es la aparición del «síndrome de la primera dosis» consistente en un descenso brusco de la PA con hipotensión ortostática y en algunos casos síncope, al inicio del tratamiento o después de aumentos bruscos de la dosis. Este efecto aparece especialmente en ancianos y en pacientes diabéticos con neuropatía autonómica y puede ser peligroso en pacientes con enfermedad isquémica cerebral y coronaria y puede minimizarse iniciando la terapia a dosis muy bajas en el momento de acostarse y ajustando la dosis con extrema prudencia (Robertson y Biaggioni, 2018).

2.4.6 Antagonistas de los receptores de la angiotensina II.

Son fármacos que producen, al igual que los IECA, un bloqueo del sistema renina-angiotensina por bloqueo del receptor AT1 de la angiotensina II. En pacientes con HTA, la administración de los antagonistas de los receptores de la angiotensina II (ARA II) causa un descenso de la presión arterial a valores normales, siendo efectiva en el 50 % de los pacientes hipertensos. Debido a la acción sinérgica, el efecto se ve potenciado al combinarla con algún diurético. Por esta razón, los ARA II se prescriben para pacientes que hayan presentado una respuesta favorable a los

IECA, pero en los que, debido a la tos, se ha tenido que suspender el tratamiento (Garay y col., 2017).

2.5 Cáncer.

El cáncer es un término genérico que designa un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del organismo; también se habla de «tumores malignos» o «neoplasias malignas» (WHO, 2021). El cáncer puede generarse a consecuencia de mutaciones genéticas que pueden ser heredadas en alguno de los casos, inducidas por factores ambientales o como resultado de errores en la replicación del ADN (Tomasetti y col., 2017). Un nuevo estudio realizado por Tomasetti y colaboradores en el 2017, sugiere que el 30 % del total de los casos de cáncer son causados por errores en el proceso de replicación, recalcando la importancia de la detección e intervención tempranas, para reducir las muertes causadas por los cánceres que surgen de errores inevitables en la replicación del ADN (Tomasetti y col., 2017). De acuerdo con la información proporcionada por la fundación American Cancer Society, las células cancerosas se desarrollan a raíz de múltiples cambios en su genética. Estos cambios pueden surgir a raíz de diversas causas como el estilo de vida y los genes, así como la exposición a ciertos agentes cancerígenos en el entorno (sustancias o elementos causantes de cáncer) pueden estar entre las causas principales y, en muchos de los casos, no hay una causa que sea evidentemente atribuible (ACS, 2020). Por tanto, el cáncer es el resultado de la acumulación progresiva de mutaciones genéticas que sucesivamente incrementan la proliferación celular. Hay dos factores que han sido ampliamente estudiados a este respecto: los ambientales y los hereditarios (Tomasetti y col., 2017).

Sin embargo, en un estudio realizado por Lázaro López en 2019, se planteó la hipótesis de la existencia de una tercera fuente de mutaciones, conocida como mutaciones debidas a errores aleatorios durante la replicación normal del ADN, que podrían explicar por qué los cánceres son mucho más comunes en algunos tejidos que en otros (Lázaro-López, 2019). La hipótesis se basa en la observación de que el riesgo de desarrollar cáncer entre 25 tejidos diferentes correlaciona con la cantidad total de divisiones de células madre en esos mismos tejidos (Lázaro-

López, 2019). En el estudio se evaluó la incidencia del cáncer en 69 países y en todos los países examinados se encontró una fuerte correlación estadísticamente significativa entre el riesgo de cáncer y el número de divisiones de las células madre de cada tejido (Lázaro-López, 2019). Tras un riguroso análisis de los datos y de acuerdo con las estimaciones de instituciones como el Cancer Research UK o la U. S. Centers for Disease Control and Prevention, la evidencia parece indicar que alrededor de 2/3 de los casos de cáncer podrían ser debidos a errores aleatorios ocurridos en el proceso de replicación normal unido a la división de las células madre a lo largo de la vida (Tomasetti y col., 2017).

2.6 Medicamentos para el tratamiento de cáncer.

La quimioterapia consiste en el uso de fármacos para destruir células cancerosas. Los medicamentos quimioterapéuticos destruyen las células cancerosas o evitan que se dividan al impedir que se multipliquen y diseminen (ACS, 2019). Las células cancerosas suelen crecer y dividirse de manera rápida, descontrolada y sin orden. Debido a que se multiplican tan aceleradamente, algunas veces las células cancerosas se desprenden del tumor original y se desplazan a otras partes del cuerpo (ACS, 2019).

Algunos de los efectos secundarios más comunes causados por la quimioterapia son (Romelio, 2018):

- Cansancio
- Caída del cabello
- Tendencia a presentar fácilmente moretones y sangrados
- Infección
- Anemia (recuentos bajos de glóbulos rojos)
- Náuseas y vómitos
- Cambios en el apetito
- Estreñimiento
- Diarrea
- Problemas en boca, lengua y garganta como úlceras (llagas) y dolor al tragar
- Problemas en músculos y nervios como entumecimiento, hormigueo y dolor

- Cambios en la piel y las uñas, como sequedad y cambio de color
- Cambios urinarios y problemas renales
- Cambios en el peso
- Efectos sobre el sistema nervioso central que puede afectar la capacidad para concentrarse y enfocarse
- Cambios en el estado de ánimo
- Cambios en el deseo y la función sexual
- Problemas de fertilidad

Los medicamentos quimioterapéuticos pueden agruparse de acuerdo con la forma en que funcionan, su estructura química y las interacciones que tengan con otros medicamentos. Algunos medicamentos funcionan en más de una forma y pueden pertenecer a más de un grupo (ACS, 2019).

2.6.1 Agentes alquilantes.

Los agentes alquilantes impiden la reproducción de las células (hacer copias de ellas mismas) al dañar su ADN. Estos medicamentos ejercen su acción en todas las fases del ciclo celular (ACS, 2019). Los agentes alquilantes son monofuncionales (pueden reaccionar con solo una cadena de ADN) o bifuncionales (reaccionan con un átomo en cada una de las dos cadenas de ADN para formar enlaces covalentes cruzados con las cadenas) (Ralha y col., 2018). Estos fármacos actúan por tres mecanismos diferentes, lo que lleva a la alteración de la función del ADN y, en última instancia, a la muerte celular:

- El daño al ADN se genera por la formación de puentes cruzados, es decir, enlaces covalentes que involucran átomos localizados en las dos cadenas del ADN (Ralha y col., 2018).
- La alquilación puede causar mutaciones debido al emparejamiento incorrecto de los nucleótidos (Ralha y col., 2018).
- Un agente alquilante une grupos alquilo a bases de ADN, mientras que las enzimas reparadoras de la cadena intentan reemplazar las bases alquiladas, lo que da como resultado la fragmentación del ADN (Ralha y col., 2018).

Las nitrosoureas son un grupo de agentes alquilantes que tienen la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica. Esta acción hace que estos medicamentos sean útiles en el tratamiento de ciertos tipos de tumores cerebrales (ACS, 2019). Este grupo de medicamentos actúa bloqueando la replicación del ADN, la transcripción del ARN y la función del ácido nucleico. Específicamente, la carmustina, que es el principal fármaco de este grupo, presenta dos grupos cloroetilo que alquilan los ácidos nucleicos y las proteínas celulares, formando entrecruzamientos de ADN-ADN o de ADN-proteína. Durante la descomposición de la carmustina, también se forman isocianatos que pueden reaccionar con residuos de lisina de proteínas. Se ha demostrado que el isocianato de 2-cloroetilo de carmustina inhibe la reparación de roturas de la cadena de ADN, por consiguiente, tanto la alquilación y la carbamoylación contribuyen al mecanismo de acción de las nitrosoureas (Benediz y Gómez, 2016).

2.6.2 Antimetabolitos.

Los antimetabolitos interfieren con la síntesis del ADN y el ARN, sustituyendo los elementos fundamentales para formar estas moléculas. Cuando esto sucede, el ADN no puede hacer copias de sí mismo y la célula no puede reproducirse (ACS, 2019). La mayor parte de estos agentes son análogos de bases púricas y pirimidínicas, que se han introducido empíricamente para que interfieran en el proceso de síntesis y duplicación del ADN por su semejanza con los sustratos naturales (Henderson, 2013). Aunque son medicamentos exitosos, el mecanismo de acción resulta complejo, ya que es distinto según el medicamento y muchas veces no se conoce con precisión. El mecanismo de acción involucra, entre otros y concurrentemente, la inhibición de la síntesis de nucleótidos y la incorporación directa de los antimetabolitos al ADN y ARN, dando lugar a cadenas defectuosas que activan los procesos celulares de apoptosis o que inhiben la posterior síntesis de la cadena desde el punto de inserción (Initian, 2017).

Los antimetabolitos son específicos del ciclo celular. Atacan las células en fases muy específicas del ciclo y se clasifican de acuerdo con las sustancias con las que interfieren:

- Antagonista del ácido fólico: metotrexato (Initian, 2017).
- Antagonistas de la pirimidina: 5-fluoruracilo, floxuridina, citarabina, capecitabina y gemcitabina (Initian, 2017).
- Antagonistas de las purinas: 6-mercaptopurina y 6-tioguanina (Initian, 2017).
- Inhibidores de la adenosina deaminasa: cladribina, fludarabina, nelarabina y pentostatina (Initian, 2017).

2.6.3 Antibióticos antitumorales.

Son un tipo de medicamentos anticancerígenos que impiden la reproducción de las células al interferir con el ADN. También se llama antibiótico antineoplásico y antibiótico contra el cáncer (NCI, 2020). Estos medicamentos ejercen su acción al interactuar directamente con el ADN dentro de las células cancerosas para impedir que crezcan y se multipliquen.

Las antraciclinas son los antibióticos más usados para el tratamiento de tumores cancerosos. Estos fármacos interfieren con las enzimas involucradas en la replicación de ADN durante el ciclo celular. Estas moléculas se unen directamente al ADN de modo que este no pueda hacer copias de sí mismo y una célula no pueda reproducirse (ACS, 2019).

2.6.4 Inhibidores de la topoisomerasa.

Estos medicamentos son alcaloides de origen vegetal que interaccionan con las enzimas topoisomerasas, que ayudan a separar las hebras de ADN para que se puedan copiar (ACS, 2019). Los inhibidores de la topoisomerasa se agrupan según el tipo de enzima que afectan:

- Inhibidores de la topoisomerasa I (también llamados camptotecinas) (Irinotecán, irinotecán liposomal, topotecán entre otros) (ACS, 2019).
- Inhibidores de la topoisomerasa II (también se denominan epipodofilotoxinas) (Etopósido VP-16, mitoxantrona y tenipósido, principalmente). Los inhibidores de la topoisomerasa II pueden aumentar el riesgo de un segundo cáncer (ACS, 2019).

2.6.5 Inhibidores de la mitosis.

Los inhibidores de la mitosis son alcaloides de origen vegetal que detienen la división celular para la formación de nuevas células (NCI, 2020). Estos medicamentos interfieren en el proceso de mitosis sin afectar directamente al ADN.

Por lo tanto, son específicos de fase con escasa acción en células que no se dividen (ACS, 2019). Los medicamentos comercializados de este grupo actúan sobre los microtúbulos que forman el entramado celular y que tienen, entre otras importantes funciones, la de formar el huso mitótico durante la mitosis (ACS, 2019). Su función requiere del mantenimiento de un equilibrio dinámico de polimerización y despolimerización entre el microtúbulo y su constituyente tubulina. Este equilibrio es roto en uno u otro sentido por los antineoplásicos inhibidores de la mitosis (ACS, 2019).

2.7 Alternativas de origen natural.

Con el impresionante incremento de la demanda de alternativas terapéuticas, ajenas en conceptos y prácticas al modelo científico biomédico, la medicina alternativa se encuentra enmarcada hoy día en un contexto que hace apenas algunos años no existía (Greger, 2016). Prueba de ello es el notable crecimiento de algunos de sus recursos en países industrializados, el cual ha venido acompañado por cambios en la oferta de servicios terapéuticos, formas distintas de entender la salud y la enfermedad, así como la utilización combinada de muchas de estas formas terapéuticas (Earley, 2012). Esta participación ha sido reconocida por organizaciones internacionales de salud, como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) de quienes han emanado intentos de apoyo y promoción de políticas dirigidas a ensayar formas distintas de articulación de esta medicina con los sistemas oficiales de salud, enfocadas primordialmente en la Atención Primaria a la Salud (Bassols-Batalla, 2006). De igual forma, algunas organizaciones civiles (ONGs) trabajan apoyando la medicina tradicional a diferentes niveles en varios países; sin embargo, existen múltiples dificultades que impiden la consolidación de programas en medicina tradicional (Earley, 2012).

Según la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), México posee alrededor de 4,000 especies de plantas con propiedades medicinales, de las cuales, se estima que sólo el 5 % han sido validadas científicamente (Carrillo-Esper y col., 2010). En el cuarto informe redactado por la CONABIO se indicó que, en México, hasta enero de 2016, solo el 6.25 % del total de especies de plantas medicinales del país contaban con programas de manejo publicados en el Diario Oficial de la Federación, es decir, 250 plantas medicinales que están validadas farmacológica y clínicamente (Fierro, 2016).

La medicina herbolaria ha sido durante mucho tiempo un recurso importante para el cuidado de la salud en las ciudades y regiones de México, sobre todo, en aquellas donde hay escasez de recursos; sin embargo, a pesar de esta riqueza farmacológica, aún se desconocen muchas propiedades medicinales, lo que refleja la necesidad de su examen detallado, tomando en cuenta métodos científicos integrales (Fierro, 2016).

Existe una gran cantidad de investigaciones realizadas sobre la medicina herbolaria (en diferentes escalas regionales y en diferentes períodos) que muestran la importancia de esta particular alternativa terapéutica en el contexto de la atención de la salud en el país. Existen estudios cualitativos enfocados en el análisis de las principales plantas medicinales y su eficacia, científicamente comprobada, en la comunidad de Taxco (Urióstegui, 2014). Se entrevistó a seis médicos tradicionales reconocidos, que tenían conocimiento profundo sobre la temática. Se les preguntó acerca de las características de las principales plantas, las enfermedades del sistema digestivo más comunes que se atienden, así como las dosis y partes de las plantas usadas (Urióstegui, 2014). De manera adicional, existen escritos que confirman cómo se emplean los remedios tradicionales por el personal que ha aplicado el programa de parteras empíricas en esta misma comunidad (Gutiérrez, 2015). A nivel nacional, existen reportes de la M. en C. María Edelmira Linares Mazari que muestran la diversidad de plantas curativas que crecen en cada uno de los Estados de la República Mexicana, su agrupación por familia botánica, así como el beneficio terapéutico específico; esquema que abarca trastornos del aparato

digestivo, de las vías urinarias, afecciones respiratorias, sedantes y analgésicos, e incluso, aquellos considerados en el rubro de síndromes de filiación cultural (Linares y col., 1990).

En un contexto histórico, es posible confirmar cómo dentro de las diversas formas de curar, la herbolaria continuó siendo una vía importante de atención en las comunidades conquistadas. Autores como Viesca (Martínez, 1991) destacan un vasto cúmulo de trabajos del siglo XVI, desde el Códice De la Cruz- Badiano, donde se pintaron plantas medicinales mexicanas representativas, la Historia general de las cosas de Nueva España de fray Bernardino de Sahagún (que incluye enfermedades, tratamientos, herbolaria y su respectivo uso), hasta los escritos de Francisco Hernández, donde se estudiaron cerca de 2,000 plantas con efectos medicinales que eran bien conocidas por los médicos y curanderos "indígenas" y que fue denominada como Historia natural de la Nueva España.

En la actualidad, los esfuerzos enfocados a la divulgación etnomédica han sido tomados en cuenta también por la industria de alimentos, la cual está reconociendo un mercado potencial e invirtiendo en investigación para obtener "compuestos nutracéuticos", los cuales constituyen compuestos químicos encontrados como componentes naturales de los alimentos u otro producto comestible, que han presentado efectos benéficos para el cuerpo humano, previniendo, tratando una o más enfermedades, o mejorando el desempeño fisiológico (Ablon, 2021). Con la amplia disponibilidad de nutracéuticos, fitoquímicos o productos mejorados con especies vegetales, la presentación para su consumo es diversa, habiendo golosinas, snacks, jugos, entre otros, cuyas atribuciones son: prevenir el cáncer, reforzar el sistema inmune, reducir los niveles de colesterol, aportar importantes cantidades de fibra y calcio, así como polifenoles y proveer elementos que ayudarán a prolongar la vida del paciente o mejorar su calidad (AIAli y col., 2021). Por mencionar algunos ejemplos de plantas usadas como nutraceúticos a nivel mundial tenemos a *Panax ginseng* (ginseng), ampliamente utilizada como promotor de longevidad; existen diversas presentaciones, incluyendo suplementos alimenticios, tés e infusiones y bebidas energéticas, principalmente. La segunda especie más

utilizada a nivel mundial es el *Ginkgo biloba*, que se emplea para mejorar la memoria, como expectorante y para regular la circulación sanguínea (Prabu y col., 2012). Es importante tomar en cuenta estas aportaciones y especificar a los consumidores, en qué condiciones genera su efecto farmacológico, con qué frecuencia se debe consumir, principales efectos secundarios y enfatizar que son productos complementarios que no sustituyen a los medicamentos aprobados, provenientes de fuentes naturales o no (Ablon, 2021).

2.8 Medicina tradicional de México.

Las plantas han sido utilizadas en la medicina tradicional para el tratamiento de numerosas enfermedades desde hace miles de años y en muchas partes del mundo. Las especies vegetales representan fuentes valiosas para el desarrollo de nuevos fármacos (Chen y col., 2016). En áreas rurales de países en desarrollo, se siguen utilizando como la fuente principal de medicina y en países industrializados, cerca del 80 % de las personas utilizan medicinas basadas en productos naturales para el cuidado de su salud (Chitme y col., 2004; Balunas y Kinghorn, 2012).

Los productos naturales provenientes de plantas medicinales han demostrado ser una fuente sobresaliente de compuestos biológicamente activos, muchos de los cuales se han tomado como base, para el desarrollo de moléculas novedosas significativas para la industria farmacéutica. Por citar un ejemplo, la morfina se aislaba del opio a partir de cortes producidos en las vainas de la planta de amapola (*Papaver somniferum*), desde hace 200 años aproximadamente (Chen y col., 2016). Así pues, los productos naturales y sus análogos continúan jugando un rol prominente en la medicina, contándose dentro de las dos terceras partes de las terapias nuevas aprobadas de 1981 a 2010 (Chen y col., 2016).

Todo esto demuestra que los productos naturales y/o estructuras químicas derivadas de productos naturales continúan jugando un papel destacado en el proceso de descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos (Newman y Cragg, 2012). México es considerado como un país “megadiverso”, pues forma parte de un grupo selecto de naciones poseedoras de la mayor cantidad y diversidad de plantas. Cerca de 4,000 especies de plantas con flores, que corresponden al 15 % de la flora

total, tiene atributos medicinales, es decir, que una de cada siete especies posee alguna propiedad curativa. Sin embargo, se estima que la validación química, farmacológica y biomédica de los principios activos que contienen se ha llevado a cabo sólo en 6.25 % de estas especies (Fierro, 2016). Debido a la riqueza cultural y étnica que adquirieron los antiguos habitantes de nuestro territorio, desarrollaron una de las fitoterapias más sofisticadas del mundo. Así, diferentes pueblos han utilizado las plantas con fines medicinales desde tiempos prehispánicos (Jiménez-Sierra y col., 2014).

En México, algunas plantas que han sido utilizadas con propósitos medicinales poseen el valor agregado por generar efectos sensoriales únicos al consumirlas, razón por la cual también se emplean para condimentar los alimentos. Un ejemplo de ello es el Chilcuague (*Heliopsis longipes*) que, de entre los efectos biológicos que produce al consumidor se encuentra la sensación pungente, de hormigueo, entumecimiento y adormecimiento (Castro y col., 2017).

2.9 Características de la flora en la región centro de México y regiones adyacentes.

Entre las montañas del Eje Volcánico y las serranías transversales de Zacatecas, Salinas, Guanajuato, San Miguelito, Sierra Gorda y las dos Sierras Madres, yace comprendida la región de la Altiplanicie Meridional, con los "bajíos" y las cuencas de lagos que todavía se conservan (Chapala, Cuitzeo, Yuriria) o han desaparecido casi del todo en Jalisco, Michoacán norte, Guanajuato y Querétaro (Croat y Carlsen, 2003). El río Lerma y sus afluentes forman un importante sistema, necesario para el riego en esas zonas de clima semiárido (Croat y Carlsen, 2003). Los valles centrales del Bajío se transforman más al sur, en Toluca, Puebla y el Mezquital, en otros valles con una altura media de 2,000 metros, quedando también la cuenca de México entre dos prolongaciones de la Cordillera Neovolcánica (Croat y Carlsen, 2003). En el Bajío y cuencas dentro del Eje Neovolcánico, la cantidad de lluvia que se presenta oscila de los 800 a 1000 mm anuales. La temporada de lluvias se extiende desde mayo hasta octubre y las precipitaciones abundantes se inician en las sierras, extendiéndose e incrementándose en cantidad progresivamente hasta

tener su máximo en julio y agosto, meses que pueden registrar hasta 200 milímetros de precipitación, bordeando las partes bajas de la Cordillera Neovolcánica, por lo que es natural que en esos Bajíos, el medio ofrezca graves problemas para una agricultura próspera de temporal (Croat y Carlsen, 2003).

En distintas zonas de Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, México y Jalisco existen diversas especies vegetales de múltiple aplicación económica. Estas especies incluyen una amplia variedad de madreleña y yuca, además de arbustos como damiana, jojoba y paloma; cactus de las variedades biznaga, cardón y nopales; palo de Adán y plantas aparentemente inútiles (incluso consideradas dañinas) como el mezquite y el huizache (Ríos-Castillo et al. 2012). Otras plantas resultan útiles en los trópicos y las montañas, tanto para el comercio exterior (por ejemplo, goma de mascar) como para el cultivo en interiores y como medicina por parte de los agricultores que obtienen productos naturales que incluyen corteza curtida, palmas, costillas, frutas y semillas, hierbas y raíces (Ríos-Castillo y col., 2012).

En el estado de Querétaro existen lugares donde cotidianamente se siguen empleando plantas medicinales de manera tradicional (Nava-Fernández y Zamora-Ramos, 2001). En un estudio realizado por Nava y Zamora en el 2001, se rescataron y preservaron los conocimientos empíricos del uso de estas especies por los pobladores de este estado. Se visitaron 25 lugares localizados en seis municipios (Arroyo Seco, Cadereyta, Jalpan, Landa, Pinal de Amoles y San Joaquín), en donde se colectaron 300 especies de plantas, que corresponden a 116 especies medicinales, de las cuales a 69 se les encontró un uso medicinal distinto al reportado en la literatura y ya se conocía con anterioridad la utilización de 47 plantas (Nava-Fernández y Zamora-Ramos, 2001). Se registraron 57 enfermedades en la zona de estudio, dentro de las cuales se encontraron 16 enfermedades denominadas de filiación cultural, 13 casos correspondieron a signos y síntomas, nueve a problemas del aparato respiratorio y ocho a enfermedades de la piel y tejido subcutáneo (Nava-Fernández y Zamora-Ramos, 2001). En la relación planta-enfermedad, se encontró que, para los problemas del aparato respiratorio, se utilizaban 10 especies, para las enfermedades de la piel y tejido subcutáneo, siete

y del aparato digestivo y genitourinario, seis; mientras que, para las enfermedades de filiación cultural, signos y síntomas, se usaban 14 (Nava-Fernández y Zamora-Ramos, 2001). Las familias con mayor número de especies de uso medicinal en la zona de estudio son: Asteraceae, Labiatae, Leguminosae y Solanaceae. En Querétaro, se encuentra una flora rica y existe un conocimiento amplio acerca de las plantas de uso medicinal tradicional, por lo tanto, es necesario realizar más investigación etnobotánica para rescatar este importante acervo cultural para la entidad y el país (Nava-Fernández y Zamora-Ramos, 2001).

3. JUSTIFICACIÓN

Las principales causas de muerte a nivel mundial y en México son las enfermedades cardiovasculares (20.1 %) y el cáncer (15.2 %) (OMS, 2020). Desde el punto de vista epidemiológico, la hipertensión arterial (HTA) es el factor de riesgo cardiovascular más prevalente en el mundo, afectando al 26 % de la población adulta (Martins y col., 2016). Los fármacos disponibles para el tratamiento de la HTA y el cáncer no son efectivos y presentan diversos efectos secundarios (Bover-Freire y Moreno-González, 2010). En particular, los tratamientos oncológicos pueden generar problemas psicopatológicos en los pacientes, así como la pérdida de cabello, debilidad muscular y anemia (American Cancer Society, 2016). Con base en estos antecedentes, es necesario buscar nuevas alternativas terapéuticas que presenten menos efectos adversos y mayor eficacia. Entre estas alternativas, se encuentran las plantas medicinales, utilizadas en los sistemas médicos tradicionales del mundo. En este contexto, el estado de Querétaro cuenta con una gran diversidad de plantas medicinales, las cuales se han venido utilizando para tratar diversas enfermedades (Martínez y col., 2016). Debido a que no existen estudios recientes, en los cuales se recopile información etnomédica de las plantas del estado, es necesario realizar una búsqueda profunda de las plantas medicinales para rescatar este importante acervo cultural para la entidad y el país. Por las razones mencionadas, en el presente proyecto se plantea realizar una revisión bibliográfica exhaustiva para elaborar una compilación de especies vegetales de la zona centro y regiones adyacentes de México y evaluar los efectos vasodilatador y antineoplásico de tres especies seleccionadas con base en su uso etnomédico y la ausencia de estudios científicos. Los resultados de estos experimentos permitirán identificar especies vegetales que contengan metabolitos secundarios prometedores, potencialmente útiles para tratar la HTA y el cáncer.

4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1.- ¿Cuáles son las especies vegetales de la región del Bajío de México que son utilizadas en los sistemas médicos tradicionales para tratar la hipertensión y el cáncer?

2.- ¿Inducen los extractos orgánicos obtenidos a partir de tres especies vegetales seleccionadas un efecto vasodilatador y actividad citotóxica sobre líneas celulares de cáncer?

5. HIPÓTESIS

La investigación bibliográfica exhaustiva acerca de la flora de la región del Bajío de México y sus usos etnomédicos permite la identificación de especies vegetales, empleadas para el tratamiento de la hipertensión y el cáncer, cuyos extractos orgánicos inducen un efecto vasodilatador y/o una actividad citotóxica sobre líneas celulares de cáncer, respectivamente.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo General

Identificar especies vegetales que se emplean en los sistemas médicos tradicionales de la región del Bajío de México para el tratamiento de la hipertensión y el cáncer, seleccionar tres de estas especies, determinar su perfil químico y evaluar sus efectos vasodilatador y citotóxico sobre líneas celulares de cáncer.

6.2 Objetivos específicos

6.2.1 Identificar, mediante una investigación documental sobre estudios botánicos, etnomédicos y científicos, plantas empleadas en los sistemas médicos tradicionales de la región del Bajío de México para el tratamiento de la hipertensión y el cáncer.

6.2.2 Seleccionar tres especies vegetales, a partir de la investigación documental realizada, con base en la ausencia de estudios farmacológicos previos.

6.2.3 Evaluar el efecto vasodilatador de extractos de diferente polaridad obtenidos de las tres plantas seleccionadas, mediante el ensayo de aorta aislada de rata.

6.2.4 Determinar el efecto citotóxico sobre líneas celulares de cáncer de mama y colon de extractos de diferente polaridad obtenidos de las tres especies vegetales seleccionadas, mediante el método de MTT.

6.2.5 Determinar el perfil químico de los extractos de diclorometano de las tres plantas seleccionadas, mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas con detector de tiempo de vuelo (CG-EM/QTOF).

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Búsqueda bibliográfica.

La lista de especies vegetales de la zona centro y regiones adyacentes de México fue proporcionada por el Jardín Botánico de Cadereyta. Para cada especie, se realizó una búsqueda exhaustiva sobre sus usos etnomédicos y los estudios científicos que demostraban efectos farmacológicos comprobados de estas especies vegetales. Para la búsqueda de información sobre usos etnomedicinales y actividades farmacológicas de la flora queretana se utilizaron los documentos disponibles en la Biblioteca Virtual de la UAQ, así como también de la Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana de la UNAM.

De manera adicional, se revisaron libros, publicaciones, enciclopedias, diccionarios y otras herramientas de búsqueda proporcionadas por estas bibliotecas. Para realizar las búsquedas se empleó el nombre científico, sinónimos y, de ser necesario, se utilizó el nombre común de las especies de la lista. Adicionalmente, se buscaron los usos medicinales de las plantas por zona, enfocándose en la flora queretana.

También, se realizaron búsquedas en bases de datos en internet como: *PubMed*, *Web of Science*, *Google Scholar*, *Scopus*, *ScienceDirect*, *BioMed Research International*, *Springer Link*, *SciFinder*, *Scirus* y *JCCC @ INSTIRC*. La manera de realizar las búsquedas en las plataformas online fue colocando el nombre científico de la especie, así como sus sinónimos (si aplica) y se revisó la información obtenida considerando los últimos 5 años (2015-2020). Aunque el tiempo de revisión de artículos se extendió en situaciones en que se requirió, no se pusieron restricciones con respecto al idioma de la publicación y la selección de la información de interés se hizo de manera manual enfocándose a aquellos estudios que avalaran efectos farmacológicos de las especies de la zona centro y regiones adyacentes. Toda la información recopilada por cada una de las fuentes consultadas fue colocada en un formato establecido para cada género, el cual contiene el resumen de los datos obtenidos para facilitar el análisis de estos.

7.2 Elaboración de la base de datos digital.

Una vez teniendo la compilación de especies vegetales en sus respectivos formatos, se procedió a realizar la base de datos digital, la cual lleva por nombre “Plantas medicinales de Querétaro”. Esta base de datos contiene toda la información obtenida de las especies vegetales de la zona centro y regiones adyacentes de México, obtenida como se describió en el punto anterior, organizada de tal forma que es amigable para el usuario que desee revisar dicha información y además está disponible para todo el público.

La página web (intranet) se realizó usando el software “Google Sites”. La información de cada planta está organizada de la siguiente manera: “Portada con nombre científico de la familia → Portada con nombre científico de la especie → Foto de la especie → Generalidades de la especie (Nombre común, sinónimos, características) → Usos medicinales reportados → Usos farmacológicos reportados → Bibliografías”.

Esta base de datos forma parte del reservorio universitario, la cual fue publicada en la página del Posgrado en Ciencias Químico Biológicas en el apartado de “Conócenos más” con el nombre de “Flora de Querétaro”.

7.3 Preselección de especies para el estudio farmacológico.

Con la compilación de las plantas del Estado de Querétaro con uso medicinal y sus respectivos estudios farmacológicos, se procedió al análisis de la información, seleccionando a las especies con uso medicinal para tratar la hipertensión arterial y el cáncer. Posteriormente, se seleccionaron las plantas que no hayan sido objeto de estudios farmacológicos. Por último, las variedades seleccionadas se sometieron a una revisión quimiotaxonómica, donde se buscó información sobre los metabolitos encontrados en especies del mismo género o de la misma familia para seleccionar las plantas más atractivas desde el punto de vista fitoquímico.

7.4 Selección de especies para el estudio farmacológico.

Después de realizar la compilación de la información de las especies vegetales de la flora del Bajío que son empleadas con fines medicinales, se seleccionaron tres plantas de la flora queretana para someterla a una evaluación farmacológica. Los criterios de selección fueron los siguientes: usos etnomédicos de la planta, reportes de estudios farmacológicos y disponibilidad de la especie vegetal.

7.5 Reactivos y productos químicos.

Los reactivos y disolventes empleados para la obtención de los extractos y la evaluación de sus efectos vasodilatador y antineoplásico fueron adquiridos de JT Baker (Phillisburg, NJ, EE. UU.). Se obtuvieron estándares y solventes para los ensayos farmacológicos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.).

7.6 Material vegetal.

Las especies vegetales seleccionadas para el estudio farmacológico fueron colectadas por el Botánico, Dr. Luis Gerardo Hernández Sandoval de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro. Un espécimen de cada una de las especies vegetales colectadas se depositó para su identificación en el Herbario Jerzy Rzedowski (QMEX), Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

7.7 Líneas celulares de cáncer y cultivo celular.

Se usaron dos líneas celulares de cáncer (de colon y de mama) para evaluar el efecto citotóxico de los extractos de las especies vegetales seleccionadas. Las líneas celulares HT-29 (ATCC HTB-38) de adenocarcinoma colorectal y MDA-MB-231 (ATCC HTB-26) de cáncer de mama fueron cultivadas en medio DMEM, suplementado con suero fetal bovino al 10 % y penicilina-estreptomicina al 1 % como antibiótico a 37°C y 5 % de CO₂.

7.8 Animales de experimentación.

Todos los protocolos experimentales se realizaron de acuerdo con las directrices de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Se utilizaron ratas macho Wistar (250–300 g) para el estudio farmacológico, las cuales fueron proporcionadas por el Bioterio del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla. Los animales se mantuvieron en jaulas de policarbonato con medidas de 64 x 34 x 25 cm con tapa de reja metálica con separaciones de 1.5 cm entre cada una. Se utilizó cama sanitaria de aserrín, la cual se cambió tres veces a la semana. Los animales se alojaron en un cuarto bien ventilado a una temperatura de 22 ± 2 °C, bajo un ciclo de 12 horas de luz: 12 horas de oscuridad (luz de 7:00 am a 7 pm) con un 30 % de humedad. A los animales se les dio alimento (Rodent chow 5001) y agua *Ad libitum*. En total, se utilizaron 12 ratas para el ensayo de aorta aislada de rata, 4 ratas para evaluar cada uno de los tres extractos orgánicos evaluados. Posteriormente, se contrató un servicio de recolección de residuos peligrosos biológico-infecciosos (RPBIs) para el tratamiento y procesamiento de los residuos.

7.9 Preparación de los extractos empleados para la evaluación farmacológica.

Después de la recolecta de las especies, se tomaron 600 gramos de cada especie vegetal y fueron secados en un horno a 40 °C, usando luz de lámparas calefactoras de manera indirecta. Después, se trituraron hasta obtener un polvo fino. Para la preparación de los extractos, el material vegetal fue molido (200 g) y se sometió a extracción por el método de Soxhlet: para el primer grupo (compuestos no polares), el material vegetal se extrajo con diclorometano absoluto; para el segundo grupo (compuestos polares) se utilizó metanol. Para la obtención de los extractos de las dos diferentes polaridades, se colocó el material vegetal seco y triturado en una cámara permeable de papel Whatman dentro de la corneta del equipo Soxhlet, en el matraz se agregó el solvente correspondiente y se comenzó la extracción calentando el solvente con un plato caliente, dejando al menos 5 ciclos de extracción en el sistema. Este proceso se realizó de manera secuencial por un tiempo promedio de 10 horas. Posteriormente, el material vegetal se filtró y el disolvente se

eliminó mediante evaporación rotatoria a 40 °C para los extractos de diclorometano y de 60 °C para los extractos metanólicos.

7.10 Determinación del efecto vasodilatador: ensayo de aorta aislada de rata.

Para determinar el efecto relajante de la musculatura lisa arterial de los extractos obtenidos de las plantas seleccionadas, se empleó el ensayo de aorta aislada de rata, mediante el siguiente procedimiento: las ratas fueron anestesiadas con isoflurano y sacrificadas por decapitación. Se extrajo la aorta torácica descendente y se colocó en una solución fría de Krebs-Henseleit con la siguiente composición: 126.8 mM NaCl, 5.9 mM KCl, 2.5 mM CaCl₂, 1.2 mM MgSO₄, 1.2 mM KH₂PO₄, 30 mM NaHCO₃ y 5 mM D-glucosa (pH 7.4). La aorta se cortó en anillos de 4 a 5 mm que fueron montados en cámaras de incubación de 5 mL con solución de Krebs-Henseleit a 37 °C y burbujeo constante de una mezcla de 95 % O₂ y 5 % CO₂. El tejido se sometió a una tensión basal de 1.5 g y se dejó estabilizar por 40 minutos. Una vez que el tejido alcanzó el equilibrio, los segmentos se pre-contrajeron con una solución de KCl 100 mM durante 15 minutos para estimular el músculo arterial. Posteriormente, se eliminó el KCl permitiendo que la aorta se estabilizara hasta alcanzar nuevamente su tensión basal. Una vez que el tejido se estabilizó, se adicionó de manera acumulativa las concentraciones de cada uno de los extractos (de 0 µg/mL a 1000 µg /mL). Los cambios en la tensión provocados por las concentraciones evaluadas, se detectaron mediante transductores de fuerza Grass FT03 acoplados a un polígrafo Grass 7D, expresándose como el porcentaje de relajación, tomando como base la contracción alcanzada al adicionar la fenilefrina (Ibarra y col., 2010).

7.11 Disolución de los extractos obtenidos para ensayos de proliferación.

Los extractos de diclorometano y metanol obtenidos por extracción con Soxhlet, de cada una de las especies seleccionadas fueron disueltos en DMSO al 5 % para luego ser sonicados durante 15 minutos con un sonicador de sonda Fisherbrand modelo 120, a una frecuencia de 35 Hz. Una vez pasados los 15 minutos, se adicionó el medio DMEM (10 mL) y se sonicó nuevamente por 15 minutos. Después,

la mezcla se filtró con un equipo manual Swinnex de 25 mm de diámetro con un filtro de 2 micras para su esterilización y fue utilizada de inmediato.

7.12 Efecto antiproliferativo de los extractos por el método de MTT.

El fundamento del método de MTT se basa en la reducción metabólica del bromuro de 3-(4,5- dimetiliazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT), realizada por la enzima mitocondrial succinato-deshidrogenasa en un compuesto coloreado de color azul (formazán), permitiendo determinar la funcionabilidad mitocondrial de las células tratadas. Este método ha sido muy utilizado para medir supervivencia y proliferación celular. La cantidad de células vivas es proporcional a la cantidad de formazán producido.

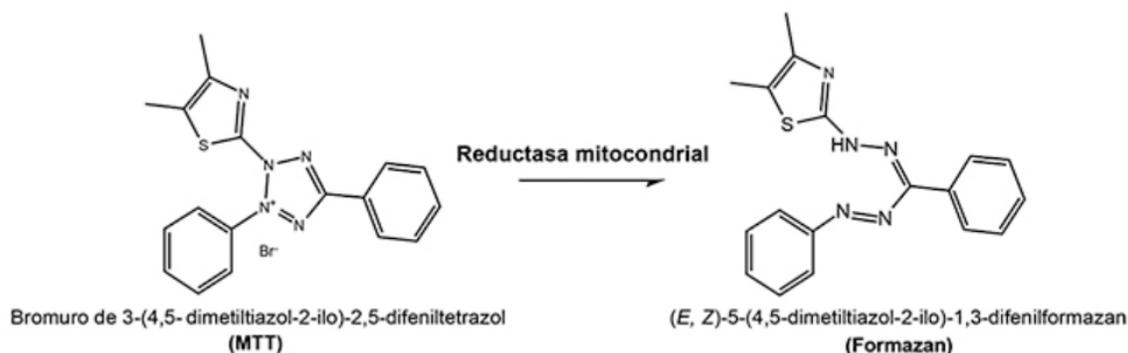


Figura 1. Reacción esquemática de la conversión de MTT a formazan, mediante la acción de la enzima reductasa mitocondrial (Tonder y col., 2015).

El desarrollo experimental fue el siguiente: utilizando tripsina EDTA, se disociaron las células y se resuspendieron en medio de cultivo suplementado (10 % de suero fetal bovino y antibiótico). Se usaron cajas de 96 pozos, en las que se colocaron 10,000 células por pozo; el método de conteo usado fue por azul tripano, donde por medio del hematocitómetro (cámara de Neubauer), se realizó el conteo celular. Para realizar este conteo se cargaron dos cámaras con 10 μ L del stock celular, se contaron el número de células en los cuatro cuadrantes extremos junto con el cuadrante del centro y se promedió el resultado. El número total de células se determinó contando cada muestra por triplicado. Las células se incubaron a 37 °C y 5 % de CO₂ durante 24 horas para permitir su adherencia. Pasado este tiempo, se retiró el medio y se agregaron los tratamientos (las concentraciones de extractos

preparados como se describe en el punto anterior) y se incubaron nuevamente a 37 °C y 5 % de CO₂ durante 24 horas. Posteriormente, se eliminó el medio y se colocaron 100 µL de medio sin suero fetal bovino por pozo. A continuación, se añadieron 10 µL de MTT en solución tampón libre de calcio y magnesio preparado de la siguiente manera: se preparó una solución madre de MTT de 12 mM, agregando 1 mL de PBS estéril a un vial de 5 mg de MTT y se mezcló por vortex hasta que se disolvió. Una vez preparada, la solución de MTT se almacenó a 4°C protegida de la luz; para su uso se dejó atemperar y se mezcló nuevamente. Después, se incubaron las células por 4 horas a 37 °C para permitir la formación de cristales de formazán, luego se descartó el sobrenadante y se añadieron 50 µL de DMSO. Los cultivos se dejaron reposar a temperatura ambiente hasta que los cristales de formazán se disolvieron (30 min). Para realizar la lectura se usó un espectrofotómetro marca SPECTRA MAX (Molecular Devices) modelo 250, el cual se configuró para realizar las lecturas de las absorbancias a 540 nm. Antes de realizar las lecturas, cada pozo se mezcló con ayuda de una pipeta y se realizó la lectura inmediatamente. Los datos fueron procesados por el Software SoftMax Pro.

7.13 Análisis químico de los extractos de diclorometano de las especies seleccionadas, mediante Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas con detector de Tiempo de Vuelo (CG-EM/QTOF).

Para evaluar los metabolitos de bajo peso molecular presentes en los extractos de diclorometano, se realizó un análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Este análisis se realizó en colaboración con el Dr. Pedro Vázquez Landaverde en el Centro de Investigación en Ciencias Aplicada y Tecnología Avanzada del Instituto Politécnico Nacional (CICATA). Se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent 7890^a con detector de ionización a la flama (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, EUA) en una columna capilar HP-5MS de 60 m x 0.25 mm de i.d. (Agilent Technologies, Inc.). La ionización de los extractos se realizó a una temperatura de 250 °C en modalidad dividida (5:1). Consecutivamente, la inyección se inició a 40 °C por 5 min y se incrementó a una velocidad de 5 °C/min hasta alcanzar 230 °C. Posteriormente, esta temperatura se mantuvo por 15 min,

utilizando helio como gas acarreador (1 mL/min) (Delgado-Altamirano y col., 2019). El análisis de espectrometría de masas se realizó en un espectrómetro Agilent 5975C de impacto electrónico con analizador de cuadrupolo. Las temperatura de la fuente de iones y del cuadrupolo fueron de 230 °C y 250 °C, respectivamente. La línea de transferencia se colocó a 280 °C y se realizó un escaneo completo en un rango de 33-300 uma a una velocidad de escaneo de 5.3/s con un voltaje de ionización de 70 eV (García-Aguilar y col., 2015; Delgado-Altamirano y col., 2019). El análisis de los datos se realizó mediante el software MSD ChemStation E.01.00.237 (Agilent Technologies, Inc.) y la identificación de los compuestos se llevó a cabo por medio de su espectro de masas, mediante la exploración en la biblioteca digital del programa NIST V8.0. La abundancia relativa de cada compuesto se determinó a partir de su área bajo la curva.

7.14 Análisis estadístico.

El análisis estadístico de los resultados obtenidos de la evaluación de los efectos vasodilatador y antiproliferativo se realizó con una $n = 6$ para cada concentración de los extractos. Se llevó a cabo el cálculo de los promedios y el error estándar de la media (SEM). Para cada extracto, se calculó también el efecto máximo (E_{max}) y la concentración efectiva media (CE_{50} ; concentración a la que se obtiene el 50 % del efecto máximo). En la determinación del efecto vasodilatador, las aortas se obtuvieron de al menos tres ratas diferentes. Se usó ANOVA de una vía seguida de una prueba *post hoc* de Dunnet para determinar si hay diferencias estadísticamente significativas entre los efectos producidos por las diferentes concentraciones de los extractos en la evaluación de los efectos vasodilatador y antiproliferativo, usando el software Prisma. Se tomó como significativo un valor de $p \leq 0.05$.

8. RESULTADOS

8.1 Búsqueda bibliográfica de los usos medicinales y efectos farmacológicos de la flora del Bajío.

Se tomó como base la obra “Flora del Bajío y Regiones Adyacentes” (FBRA) (Rzedowski y Calderón de Rzedowski, 2018), que es un inventario de las especies de plantas vasculares que crecen en forma silvestre en los estados de Guanajuato y Querétaro, así como en la parte septentrional de Michoacán conocida como la región de los Bajíos. Se revisaron los 225 fascículos ordinarios publicados hasta el año 2021. En cada uno se hizo una búsqueda de los términos clave “medicina” y “medicinal”, con objeto de encontrar a las especies que están consignadas como tales. Una vez identificadas, se elaboró la lista de Especies Vegetales de la Flora del Bajío con usos medicinales. De manera adicional, se revisaron los números de herbario para comprobar su distribución conocida dentro de al menos uno de los 18 municipios del Estado de Querétaro.

Una vez obtenida la lista, se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica exhaustiva, a fin de conocer los usos medicinales que se les atribuyen a las plantas y los estudios farmacológicos reportados. De acuerdo con el criterio de búsqueda descrito en el apartado 6.1 de la metodología, se identificaron 395 especies de 108 familias botánicas como medicinales. Las familias que cuentan con mayor número de especies con potencial de uso medicinal son:

- Fabaceae (46 especies)
- Compositae (Asteraceae) (31 especies)
- Verbenaceae (27 especies)
- Solanaceae (17 especies)
- Apocynaceae (12 especies) (ver Figura 2).

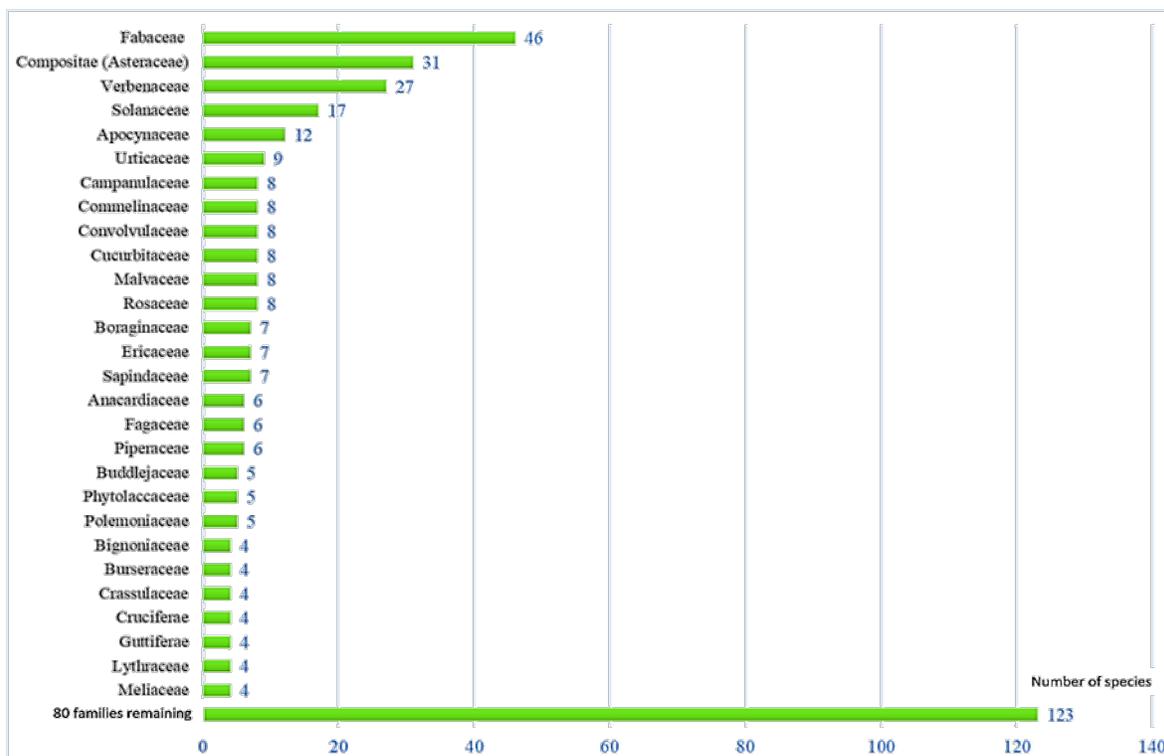


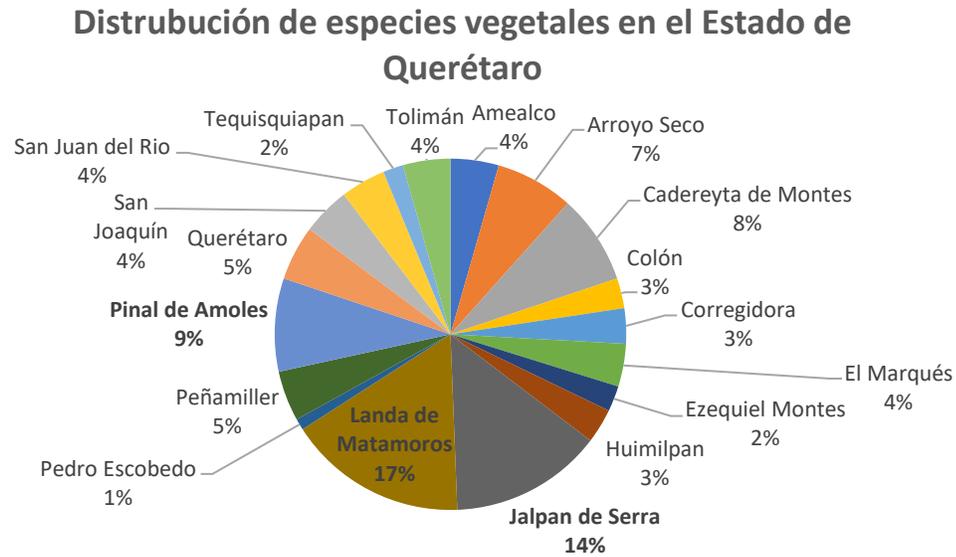
Figura 2: Número de especies con potencial medicinal en las familias botánicas de la región del Bajío.

Es de importancia mencionar que el 88.6 % (349 especies) de todas las especies crece de forma silvestre, siendo solo el 11.4 % (46 especies) cultivadas; además solo el 33.4 % (132 especies) se encuentran distribuidas en otras regiones de México, por tanto, el 66.6 % (263 especies) son encontradas solo en la zona del Bajío, esto debido a las condiciones propias de la zona. A nivel mundial, la distribución de las especies es mínima, encontrando solo el 1.7 % (7 especies). Como es bien sabido, México es un país megadiverso, en donde las condiciones climatológicas y geográficas favorece el crecimiento de especies que no fácilmente crecen en otras partes del mundo. Con relación a la zona del Bajío, la variabilidad de especies que muestra es particularmente abundante en comparación con otras regiones de México.

Respecto a la distribución documentada de las especies en el estado de Querétaro, los municipios del norte del estado (región de la Sierra Gorda) —Arroyo Seco, Pinal de Amoles, Jalpan de Serra y Landa de Matamoros— y Cadereyta de Montes, en

su porción central (zona semiárida), presentan un mayor número de especies que el resto de la entidad (Ver Figura 3).

A.



B.

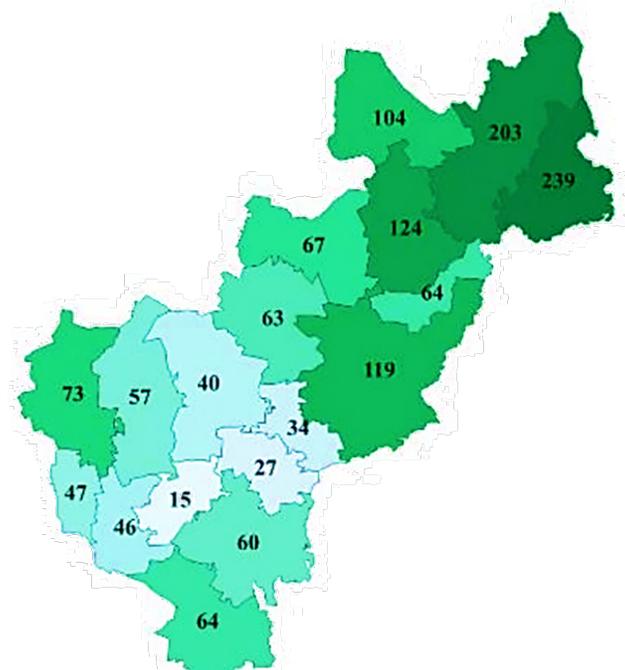


Figura 3. A. Gráfico de pastel que representa la distribución de las especies en los diferentes municipios del Estado de Querétaro; B. Mapa geográfico donde se muestra la distribución de las especies por número de las mismas en cada municipio del Estado de Querétaro.

Los tres principales municipios del Estado de Querétaro que abarcan la mayoría de las especies son: Landa de Matamoros con el 17 % (239 especies), Jalpan de Serra con el 14 % (203 especies) y Pinal de Amoles con el 9 % (124 especies). Y las 5 especies que se encuentran mayormente distribuidas en el Estado son: *Lantana hirta* (Familia Verbenaceae), cuya distribución se encuentra en los municipios de Amealco, Cadereyta de Montes, Corregidora, El Marqués, Huimilpan, Jalpan de Serra y Landa de Matamoros; *Dodonaea viscosa* (Familia Sapindaceae) que se distribuye en Arroyo seco, Cadereyta de Montes, Colón, Ezequiel Montes, Jalpan de Serra, Landa de Matamoros y Pedro Escobedo; *Priva mexicana* (Familia Verbenaceae) que geográficamente crece en los municipios de Amealco, Cadereyta de Montes, Colón, Ezequiel de Montes, Jalpan de Serra y Landa de Matamoros; *Buddleja sessiliflora* (Familia Buddlejaceae), la especie más ampliamente distribuida, crece en Amealco, Arroyo seco, Cadereyta de Montes, Corregidora, El Maqués, Huimilpan, Jalpan de Serra, Landa de Matamoros y Pedro Escobedo; y *Commelina diffusa* (Familia Commelinaceae) que se encuentra en Arroyo seco, Colón, Corregidora y El Marqués.

Los resultados de la búsqueda de los usos medicinales de las especies identifican una amplia variedad de enfermedades para las que son empleadas. Los principales usos medicinales de estas especies incluyen el tratamiento de: desórdenes gastrointestinales (14.67 %), dolor (10.94 %), enfermedades infecciosas (10.81 %), enfermedades cutáneas (10.81 %) y diabetes (10.3 %) (ver Figura 4).

Respecto a los estudios reportados de los efectos farmacológicos de las 395 especies vegetales queretanas con potencial medicinal, 225 (57 %) han sido evaluadas por un método científico y 168 (43 %) carecen de estudios que comprueben sus efectos farmacológicos (ver Figura 5).

Los principales efectos farmacológicos reportados y validados científicamente son: antimicrobiano (21.5 %), anticanceroso (13.4 %), antioxidante (12.1 %), antiinflamatorio (9.1 %) y analgésico (6.0 %) (ver Figura 6).

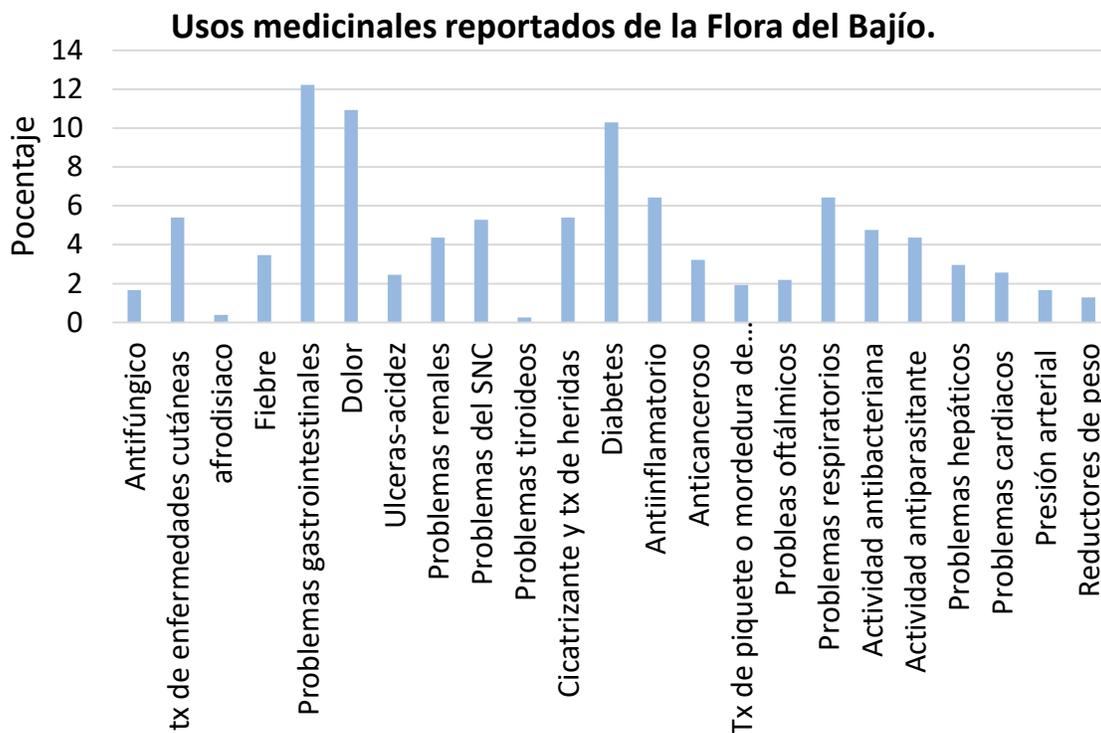


Figura 4. Gráfico que muestra el porcentaje de los usos medicinales reportados para las especies de la flora del Bajío. *Tx: Tratamiento.

Especies evaluadas y no evaluadas con métodos científicos

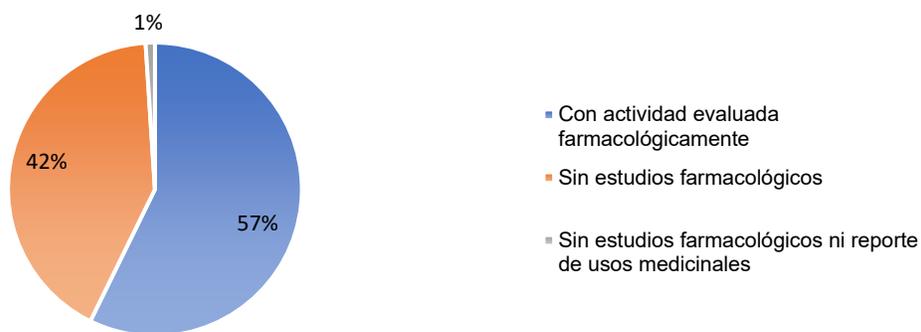


Figura 5. Gráfico que muestra el porcentaje de especies evaluadas por un método científico para comprobar su uso medicinal y efectos farmacológicos.

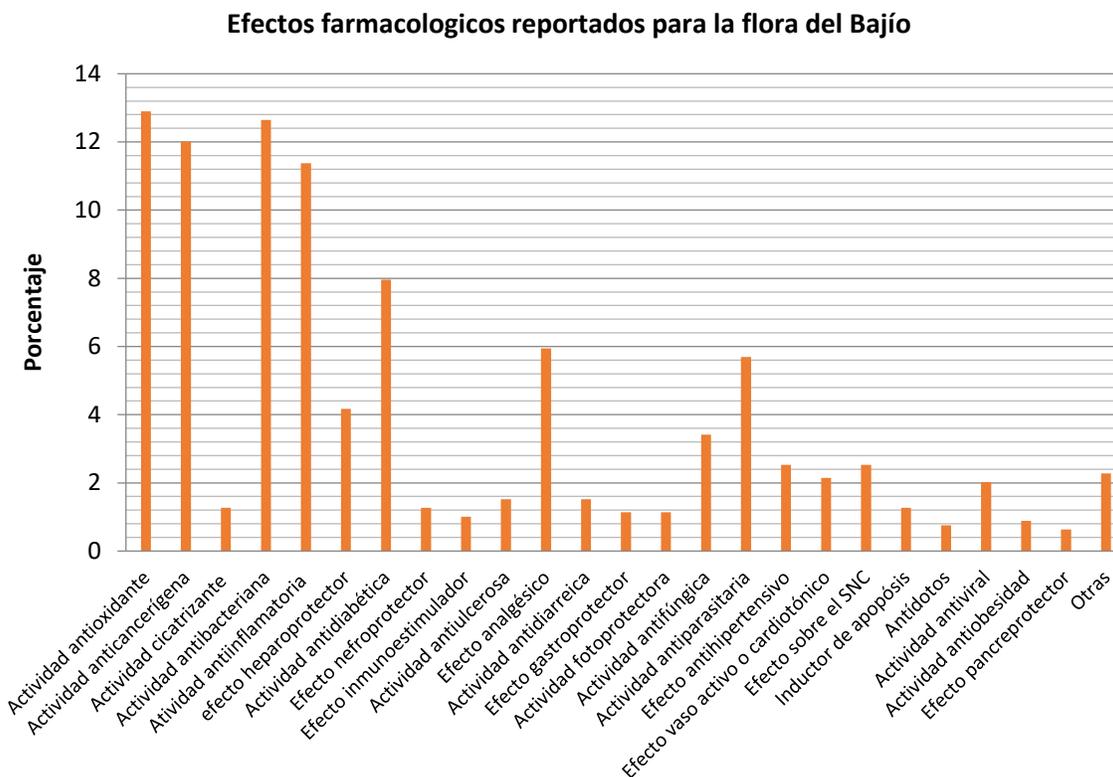


Figura 6. Gráfico que muestra la distribución de los efectos farmacológicos validados para las especies comprendidas en la región del Bajío.

8.2. Elaboración de la base de datos digital.

Con la finalidad de rescatar este importante acervo cultural para la entidad y el país, y fomentar el conocimiento de las especies para su conservación y estudios científicos posteriores, se realizó la base de datos digital, la cual lleva por nombre “Plantas medicinales de Querétaro”. Esta base de datos contiene toda la información obtenida de las plantas de la lista de especies vegetales de la zona centro y regiones adyacentes de México, obtenida como se describió en el punto 6.2 de la metodología.

La página web está organizada de la siguiente manera: “portada con nombre científico de la familia → portada con nombre científico de la especie → foto de la especie → generalidades de la especie (Nombre común, sinónimos, características) → Usos medicinales reportados → Usos farmacológicos reportados → bibliografías”.

El principal objetivo de esta base de datos es divulgar el conocimiento científico. Actualmente, ya forma parte del reservorio universitario y está publicada en la página del Posgrado en Ciencias Químico Biológicas en el apartado de “Conócenos más” con el nombre de “Flora de Querétaro” (Enlace de acceso: <https://sites.google.com/view/b-xolalpa-pmedicinales-qro/portada>).



Figura 7: Portada de la página Web creada.

8.3. Preselección de especies para el estudio farmacológico.

Los filtros aplicados a la información obtenida, se basaron en los objetivos de esta investigación, que son especies con uso medicinal para tratar la hipertensión y el cáncer. De las 395 especies de la lista, el 1.6 % (6 especies) tienen reporte medicinal para tratar problemas cardiacos y el 3.2 % (13 especies) para tratar diferentes tipos de cáncer.

En seguida se descartaron aquellas especies que tuvieran estudios científicos reportados y se agregaron especies que tuvieran parentesco con especies vegetales con reporte de efecto farmacológico en el tratamiento de hipertensión arterial y cáncer. Solo 32 especies (20 %) cumplieron con estos criterios, de las cuales 13 especies (41 %) eran candidatas para evaluar su efecto vasodilatador y 19 especies (59 %) para evaluar su efecto antiproliferativo (Ver tabla 1).

Tabla 1. Preselección de especies con uso medicinal.	
Para el tratamiento de hipertensión	Para el tratamiento del cáncer
<i>Fernaldia pandurata</i>	<i>Piper schiedeana</i>
<i>Tabernaemontana alba</i>	<i>Ipomoea purpurea</i>
<i>Senna hirsuta</i>	<i>Desmodium intortum</i>
<i>Sida abutilifolia</i>	<i>Desmodium prehensile</i>
<i>Tagetes lunulata</i>	<i>Cestrum fasciculatum</i>
<i>Geranium bellum</i>	<i>Cuphea toluicana</i>
<i>Tropaeolum azureum</i>	<i>Porophyllum tagetoides</i>
<i>Tilia americana var. Mexicana</i>	<i>Porophyllum pringlei</i>
<i>Cirsium subcoriaceum</i>	<i>Porophyllum viridiflorum</i>
<i>Lantana canescens</i>	<i>Rorippa nasturtium-aquaticum</i>
<i>Tagetes foetidissima</i>	<i>Sonchus asper</i>
<i>Piper commutatum</i>	<i>Desmodium caripense</i>
<i>Rauvolfia tetraphylla</i>	<i>Vernonia alamani</i>
	<i>Heliconia schiedeana</i>
	<i>Curcubita foetidissima</i>
	<i>Physalis cinerascens</i>
	<i>Pilea pubescens</i>
	<i>Malvastrum coromandelianum</i>
	<i>Malvastrum bicuspidatum</i>

Las especies enlistadas se sometieron a una revisión quimiotaxonómica, donde se buscó información sobre los metabolitos encontrados en especies del mismo género o de la misma familia para seleccionar las plantas más atractivas desde el punto de vista fitoquímico.

8.4. Selección de especies para el estudio farmacológico.

Una vez considerados los filtros aplicados descritos en los 2 puntos anteriores, el grupo de especies se redujo a 6 especies (Ver tabla 2). Debido a la época del año,

se pudieron coleccionar 3 especies: *Malvastrum coromandelianum*, *Malvastrum bicuspidatum* y *Piper commutatum*.

Tabla 2: Características generales de las 6 especies candidatas para su evaluación farmacológica.

Cucurbita foetidissima



Nombre común: Calabacilla amarga.

Tipo de planta: Planta herbácea, esencialmente rastrera.

Localización: Cadereyta de Montes, Corregidora, El Marqués, Ezequiel Montes, Huimilpan, Querétaro y Tequisquiapan.

Uso medicinal: Tratamiento de cáncer.

Porophyllum tagetoides



Nombre común: Hierba del aire, ojo de venado.

Tipo de planta: Planta herbácea anual, glabra, aromática al estrujarse.

Localización: Cadereyta de Montes, Corregidora, Ezequiel Montes, Peñamiller, Querétaro, San Juan del Río, Tequisquiapan y Tolimán.

Physalis cinerascens



Nombre común: Agush (otomí), costomate, jaltomate.

Tipo de planta: Planta herbácea.

Localización: Cadereyta de Montes, Corregidora, El Marqués, Huimilpan, Jalpan, Querétaro, Peñamiller, Pinal de Amoles, San Joaquín, San Juan del Río y Tolimán.

Uso medicinal: Tratamiento de cáncer.

***Malvastrum coromandelianum* (Sinónimo *Malvastrum tricuspdatum*)**



Nombre común: Huinare.

Tipo de planta: Planta herbácea.

Localización: Cadereyta de Montes, Corregidora, Huimilpan, Jalpan, Querétaro, Pinal de Amoles, San Joaquín.

Uso medicinal: Tratamiento de cáncer, tratamiento de problemas cardiacos.

Malvastrum bicuspidatum



Nombre común: Malva y tuchi.

Tipo de planta: Planta herbácea.

Localización: Cadereyta de Montes, Corregidora, Huimilpan, Jalpan, Querétaro, Pinal de Amoles, San Joaquín.

Uso medicinal: Tratamiento de cáncer, tratamiento de problemas cardiacos.

***Piper commutatum* (sinónimo de *Piper auritum*)**



Nombre común: Hoja santa, acuyo.

Tipo de planta: Planta herbácea semileñosa.

Localización: Cadereyta de Montes, Corregidora, El Marqués, Huimilpan, Jalpan, Querétaro, Peñamiller, Pinal de Amoles, San Joaquín, San Juan del Río y Tolimán.

Uso medicinal: asma, bronquitis, laringitis aguda o crónica, disnea e inflamaciones, presión alta.

***Información recolectada de fuente propia.**

8.5. Preparación de los extractos empleados para la evaluación farmacológica.

Las especies fueron colectadas, troceadas y secadas en un horno a una temperatura de 38 °C, con lámparas de calor, a luz indirecta, como se muestra en la Figura 8. Se dejaron secar entre 3 y 5 días, dependiendo de la humedad de cada especie.



Figura 8. Horno utilizado para el secado de las especies vegetales, ubicado en las instalaciones del herbario Jerzy Rzedowski (QMEX), Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México. La especie mostrada en la imagen corresponde a *Piper commutatum*.

Las especies secas se trituraron en un molino manual, se pesaron y se procedió a la extracción. El método utilizado para la obtención de los extractos fue la extracción por Soxhlet como se describe en el apartado 6.9 de la metodología (Ver Figura 9.A). Seguido de la extracción, cada extracto se concentró haciendo uso de un rotoevaporador a presión de vacío constante y a una temperatura de 40 °C para los extractos de diclorometano y de 60 °C para los extractos metanólicos (Ver Figura 9.B).

A. Esquema de extracción



B. Esquema de rotoevaporación



Figura 9: A. Esquema de extracción por el método Soxhlet, mediante procesos simultáneos. B Esquema de rotoevaporación para concentrar los extractos obtenidos.

Se obtuvieron 6 extractos, cuyos rendimientos se muestran a continuación (Ver Tabla 3).

Tabla 3: Rendimiento de los extractos obtenidos por el método de Soxhlet.

Especie vegetal	Extracto de diclorometano	Extracto metanólico
<i>Malvastrum coromandelianum</i>	4.35 g / 2.175 %	28.07 g / 14.04 %
<i>Malvastrum biscopidatum</i>	6.34 g / 3.17 %	31.11 g / 15.56 %
<i>Piper commutatum</i>	6.35 g / 5.30 %	24.14 g / 20.12 %

8.6. Determinación del efecto vasodilatador de los extractos obtenidos por el ensayo de aorta aislada de rata.

Se evaluó el efecto vasodilatador de los extractos metanólico y de diclorometano de *Malvastrum coromandelianum*, utilizando el ensayo de aorta aislada de rata. Los

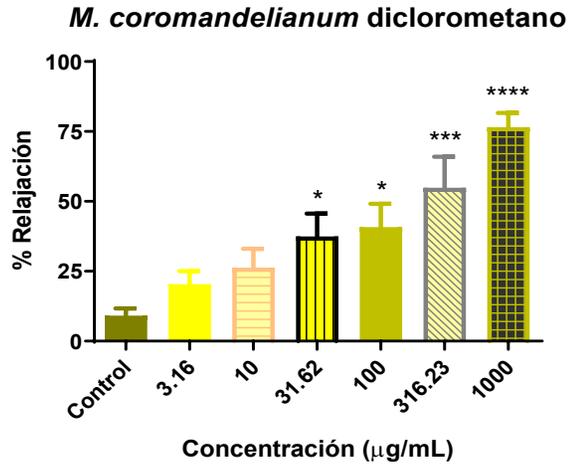
resultados indicaron que ambos extractos presentan una actividad vasodilatadora dependiente de la concentración, obteniendo para ambos, un incremento estadísticamente significativo con respecto al control a partir de la concentración de 31.62 µg/mL. *M. coromandelianum* relajó la aorta de rata con un Emax de 81.07 % y una CE₅₀ de 139.4 µg/mL para el extracto de diclorometano y un Emax de 74.51 % y una CE₅₀ de 71.89 µg/mL para el extracto metanólico (Ver Figura 10).

Así mismo, se determinó el efecto relajante de la musculatura lisa arterial de los extractos metanólico y de diclorometano de *Malvastrum bicuspidatum* en anillos de aorta aislada de rata. Los resultados muestran que ambos extractos presentan una actividad vasodilatadora dependiente de la concentración con un incremento estadísticamente significativo con respecto al control a partir de la concentración de 31.62 µg/mL. *M. bicuspidatum* presentó un Emax de 66.12 % y una CE₅₀ de 268.9 µg/mL para el extracto de diclorometano y un Emax de 87.82 % y una CE₅₀ de 17.36 µg/mL para el extracto metanólico (Ver Figura 11).

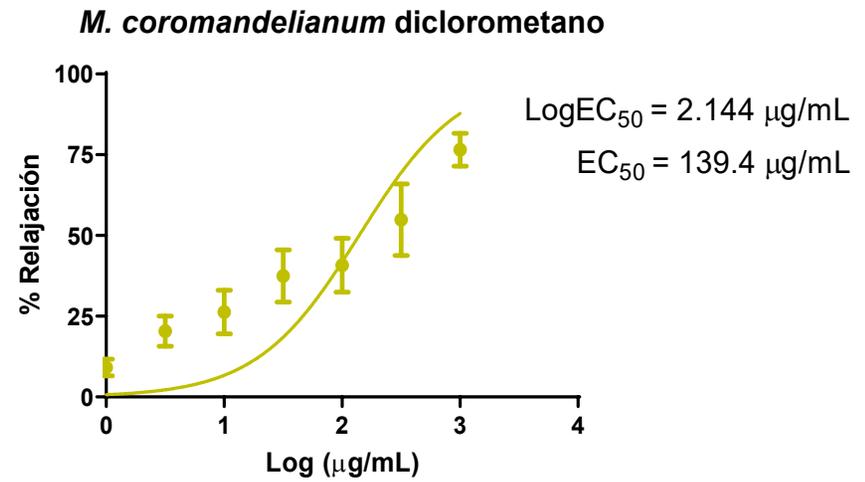
Para finalizar, se evaluó el efecto vasodilatador de los extractos metanólico y de diclorometano de *Piper commutatum*. Los resultados muestran que ambos extractos son capaces de relajar la aorta de rata de una manera dependiente de la concentración, la cual incrementó con una diferencia estadísticamente significativa con respecto al control a partir de 316.23 µg/mL. *P. commutatum* indujo un efecto vasodilatador con un Emax de 269.2 % y una CE₅₀ de 175.0 µg/mL para el extracto de diclorometano y un Emax de 360.5 % y una CE₅₀ de 196.0 µg/mL para el extracto metanólico (Ver Figura 12).

Para comparar el efecto vasodilatador de las plantas seleccionadas y sus extractos orgánicos, en la figura 13 se observan las curvas concentración-respuesta de los diferentes extractos de las tres plantas evaluadas. Nuestros resultados indican que el extracto con la menor CE₅₀ es el extracto metanólico de *Malvastrum bicuspidatum*, por tanto, es el extracto que presenta el efecto vasodilatador más potente en los anillos de aorta aislada de rata (Figura 14).

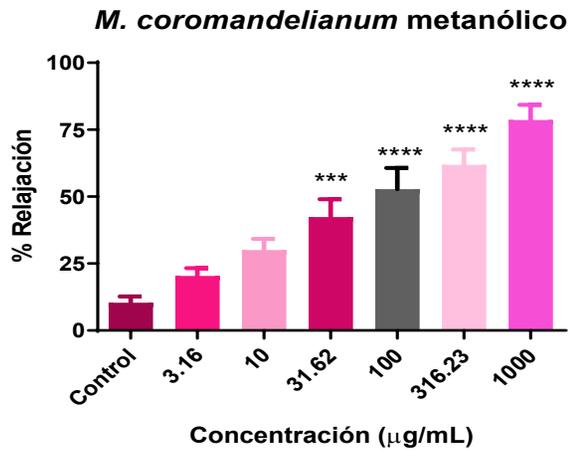
A.



B.



C.



D.

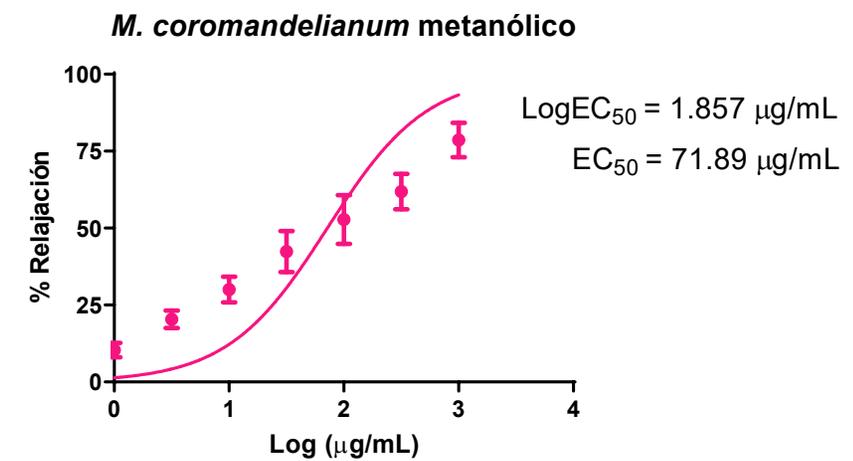
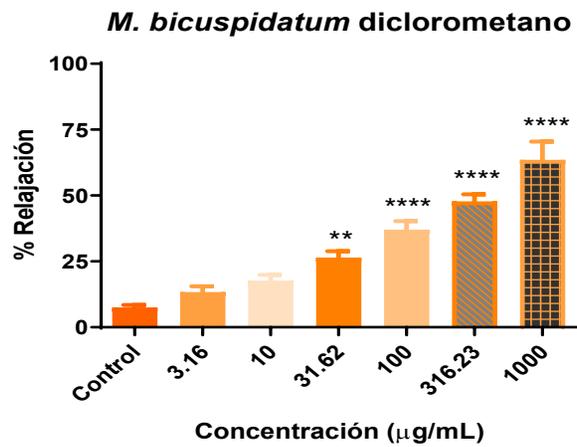
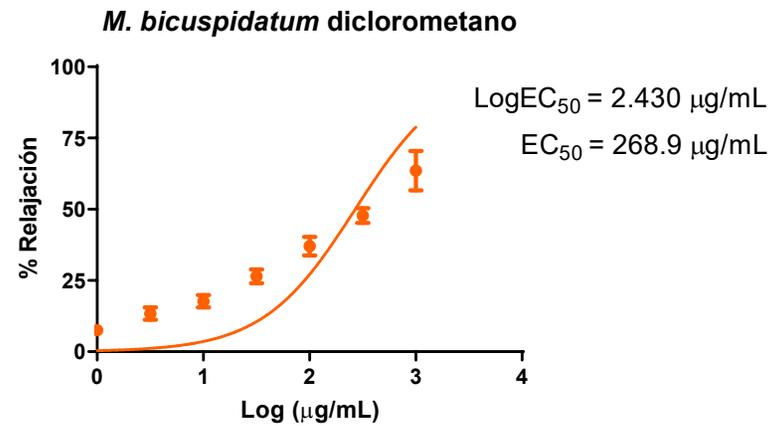


Figura 10. Figura 10. Efecto vasodilatador de los extractos obtenidos de *Malvastrum coromandelianum*, A. Gráfica de barras del efecto vasodilatador del extracto de diclorometano; B. Curva concentración-respuesta del efecto vasodilatador del extracto de diclorometano; C. Gráfica de barras del efecto vasodilatador del extracto metanólico; D. Curva concentración-respuesta del efecto vasodilatador del extracto metanólico. Los gráficos representan la media ± SEM de tres experimentos independientes. Para el análisis estadístico se realizó un ANOVA de una vía con prueba post hoc de Dunnett (* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, **** p < 0.0001).

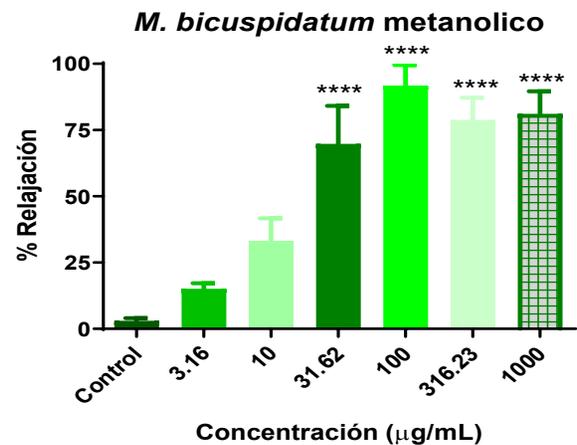
A.



B.



C.



D.

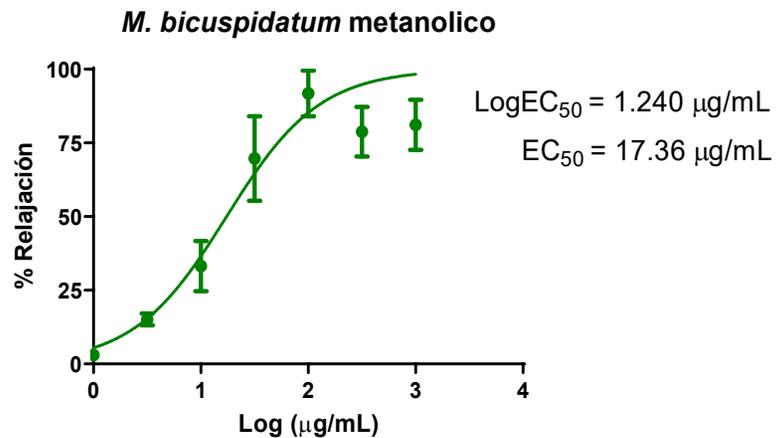
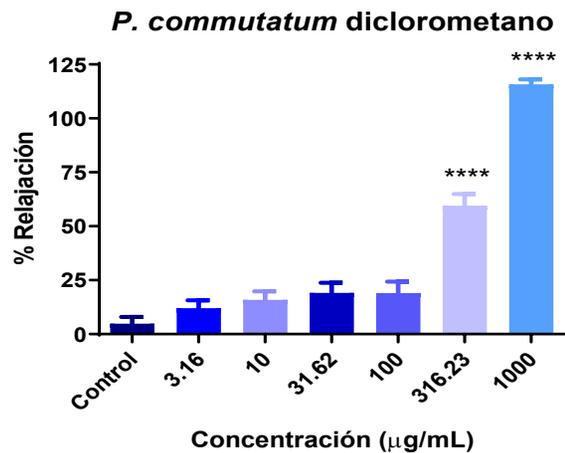
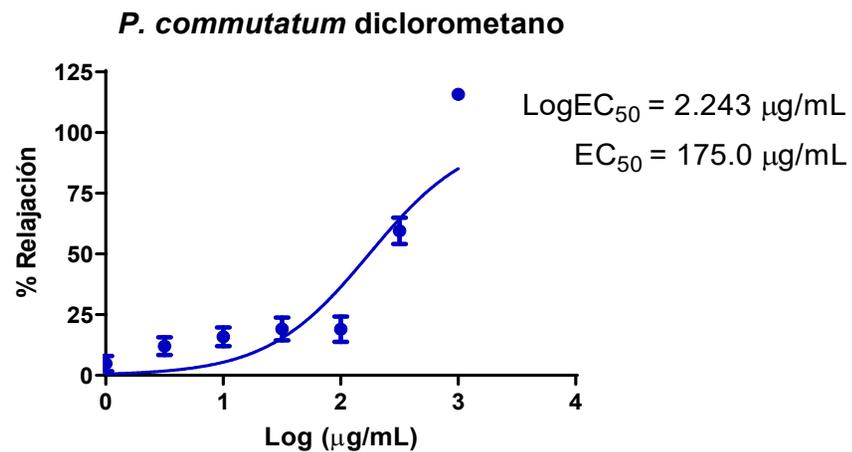


Figura 11. Efecto vasodilatador de los extractos obtenidos de *Malvastrum bicuspidatum*; A. Gráfica de barras del efecto vasodilatador del extracto de diclorometano; B. Curva concentración-respuesta del efecto vasodilatador del extracto de diclorometano; C. Gráfica de barras del efecto vasodilatador del extracto metanólico; D. Curva concentración-respuesta del efecto vasodilatador del extracto metanólico. Los gráficos representan la media \pm SEM de tres experimentos independientes. Para el análisis estadístico se realizó un ANOVA de una vía con prueba post hoc de Dunnett (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$).

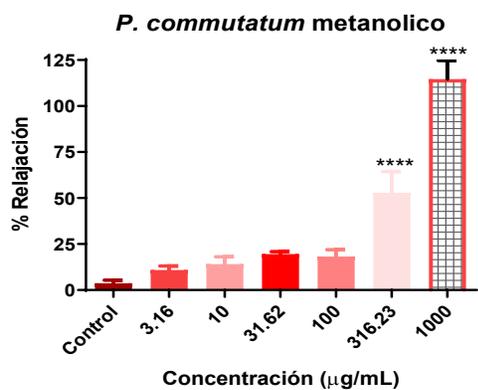
A.



B.



C.



D.

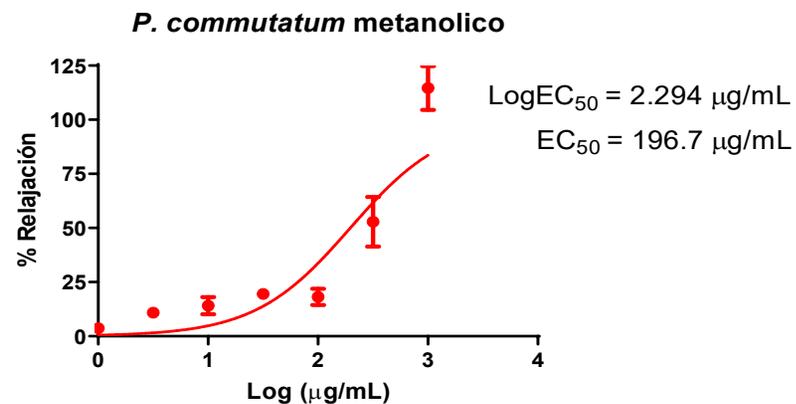


Figura 12. Efecto vasodilatador de los extractos obtenidos de *Piper commutatum*. A. Gráfica de barras del efecto vasodilatador del extracto de diclorometano; B. Curva concentración-respuesta del efecto vasodilatador del extracto de diclorometano; C Gráfica de barras del efecto vasodilatador del extracto metanólico; D. Curva concentración-respuesta del efecto vasodilatador del extracto metanólico. Los gráficos representan la media \pm SEM de tres experimentos independientes. Para el análisis estadístico se realizó un ANOVA de una vía con prueba post hoc de Dunnett (* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, **** p < 0.0001).

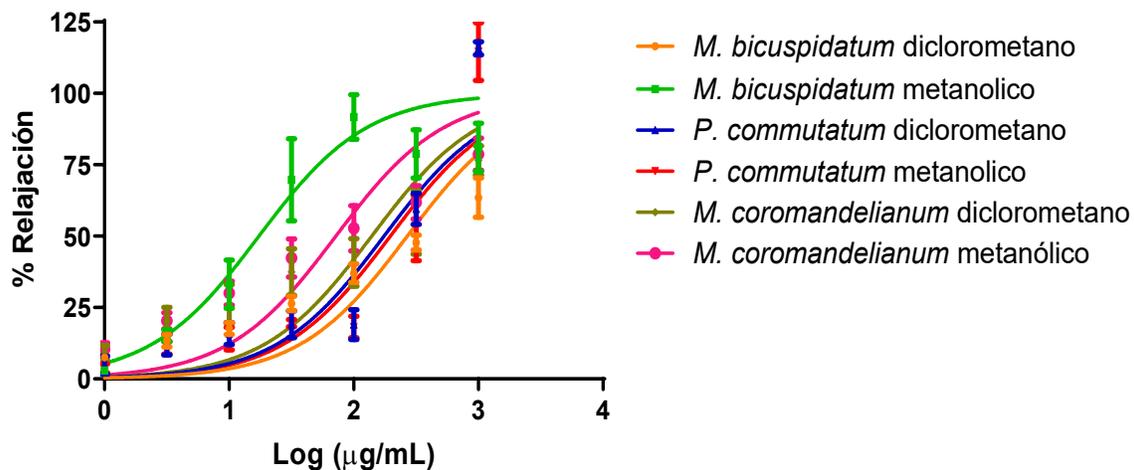


Figura 13. Curvas concentración-respuesta de los 6 extractos evaluados. MBD: *Malvastrum bicuspidatum*, extracto de diclorometano; PCD: *Piper commutatum*, extracto de diclorometano; PCM: *Piper commutatum*, extracto metanólico; MBM: *Malvastrum bicuspidatum*, extracto metanólico; MCM: *Malvastrum coromandelianum*, extracto metanólico; MCD: *Malvastrum coromandelianum*, extracto de diclorometano.

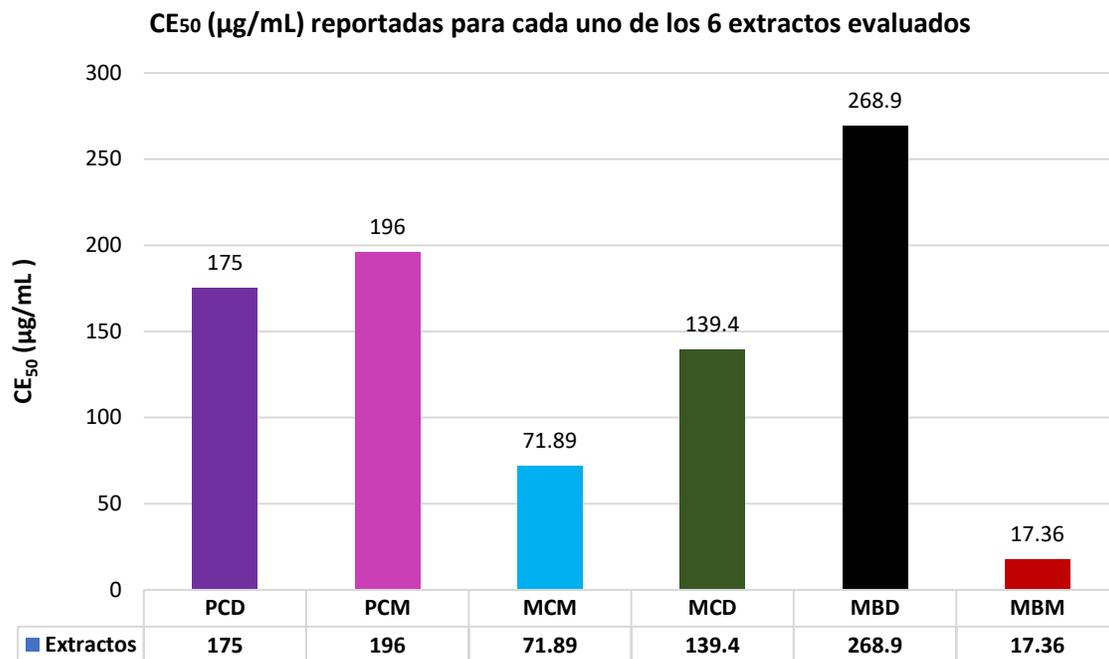


Figura 14. Gráfico comparativo de las CE₅₀ de cada extracto correspondiente a su efecto vasodilatador evaluado con el ensayo de aorta aislada de rata.

8.7. Efecto antiproliferativo por el método de MTT.

El ensayo de MTT permite determinar la funcionabilidad mitocondrial de las células tratadas. Los resultados mostrados a continuación corresponden a la evaluación de los 6 extractos obtenidos de la extracción por Soxhlet en metanol y diclorometano para cada una de las 3 plantas seleccionadas.

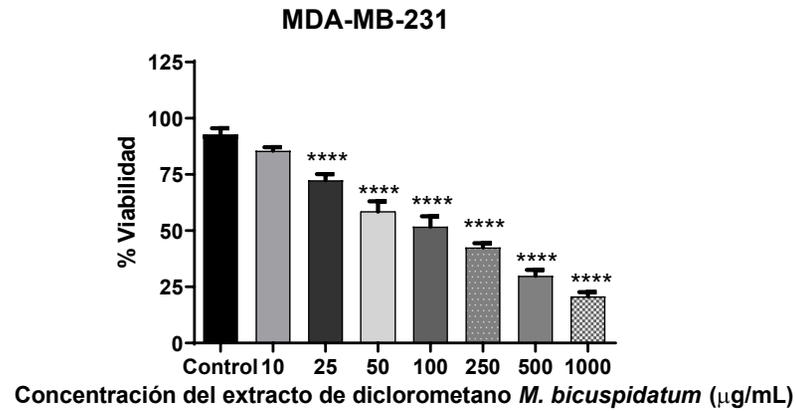
8.7.1 Curva de proliferación en células de cáncer de mama MDA-MB-231.

Se realizaron curvas de proliferación con células MDA-MB-231 pertenecientes a cáncer de mama en ausencia y en presencia de extractos orgánicos de *M. bicuspidatum*. Se obtuvo una disminución estadísticamente significativa con respecto al control a partir de la concentración de 25 µg/mL en presencia del extracto de diclorometano de *M. bicuspidatum* (Figura 15 A) y se calculó su concentración media inhibitoria (CI₅₀) que fue de 117.4 µg/mL (Figura 15 B). Asimismo, se observó una disminución significativa en la viabilidad de las células MDA-MB-231 con el extracto metanólico de esta especie vegetal a partir de 50 µg/mL hasta 1000 µg/mL (Figura 15 C), presentando una CI₅₀ de 291.3 µg/mL.

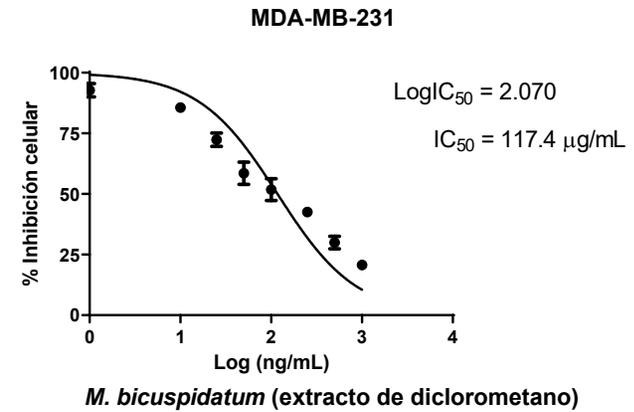
Con respecto *M. coromandelianum*, su extracto de diclorometano produjo una disminución significativa de la proliferación dependiente de la concentración a partir de 10 µg/mL (Figura 16 A), mientras que su extracto metanólico presentó también un efecto antiproliferativo, pero empezó a ser significativo a partir de los 25 µg/mL (Figura 16 C). Los extractos *M. coromandelianum* inhibieron la proliferación con una CI₅₀ de 117.4 µg/mL para el de diclorometano y de 153.6 µg/mL para el metanólico (Figura 16 B y D).

Por otro lado, tanto el extracto de diclorometano como el metanólico de *P. commutatum* disminuyeron la proliferación de las células MDA-MB-231 con respecto al control a partir de 10 µg/mL hasta la concentración probada de 1000 µg/mL (Figura 17 A y C). Ambos extractos inhibieron la proliferación con una potencia similar: el extracto de diclorometano con una CI₅₀ de 34.74 µg/mL y el extracto metanólico con una CI₅₀ de 34.02 µg/mL (Figura 17 B y D).

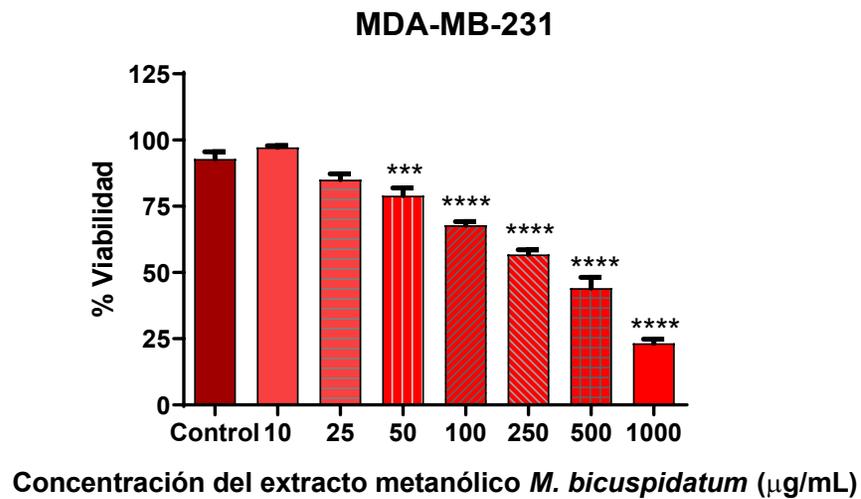
A



B



C



D

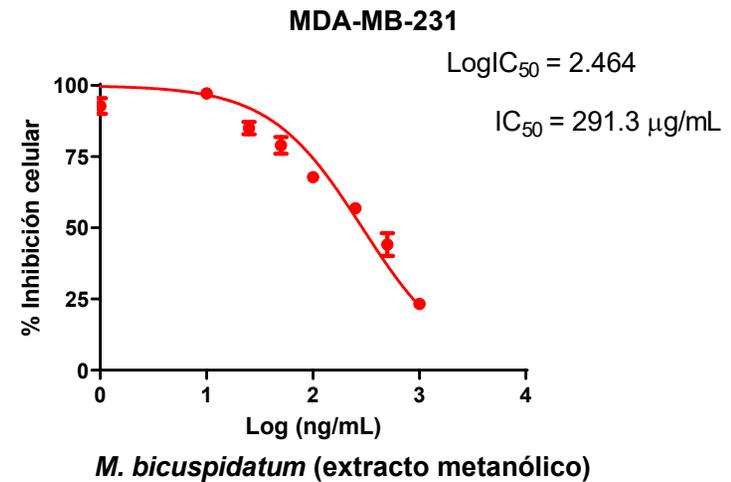


Figura 15. Efecto del extracto de *Malvastrum bicuspidatum* sobre la proliferación de células MDA-MB-231 con 24 horas de tratamiento. A, Gráfica de barras del efecto antiproliferativo del extracto de diclorometano de *M. bicuspidatum*; B, Curva concentración-respuesta del efecto antiproliferativo del extracto de diclorometano de *M. bicuspidatum*; C, Gráfica de barras del efecto antiproliferativo del extracto metanólico de *M. bicuspidatum*; D, Curva concentración-respuesta del efecto antiproliferativo del extracto metanólico de *M. bicuspidatum*. Los gráficos representan la media \pm SEM de tres experimentos independientes. Para el análisis estadístico se realizó un ANOVA de una vía con prueba *post hoc* de Dunnett (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$).

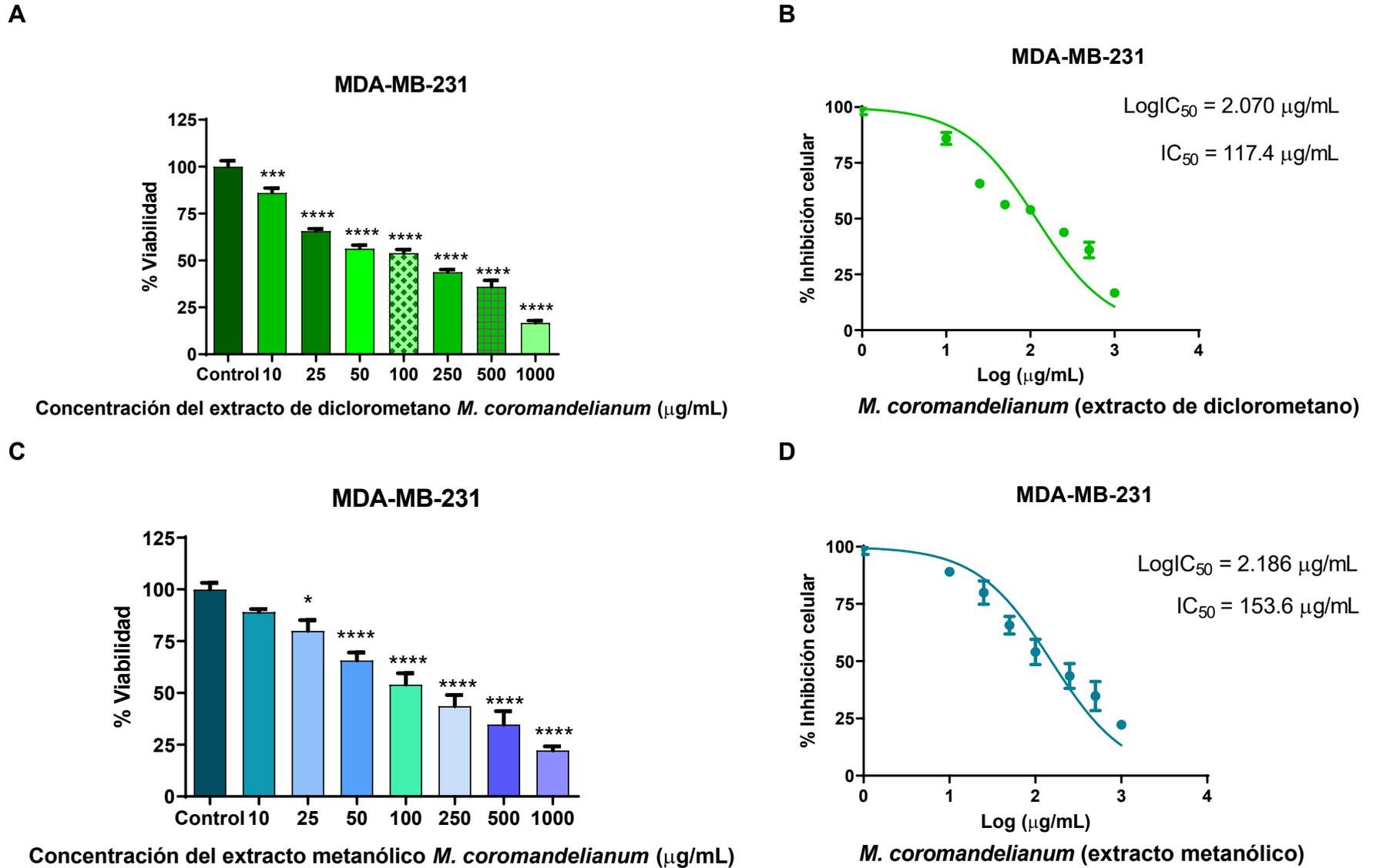
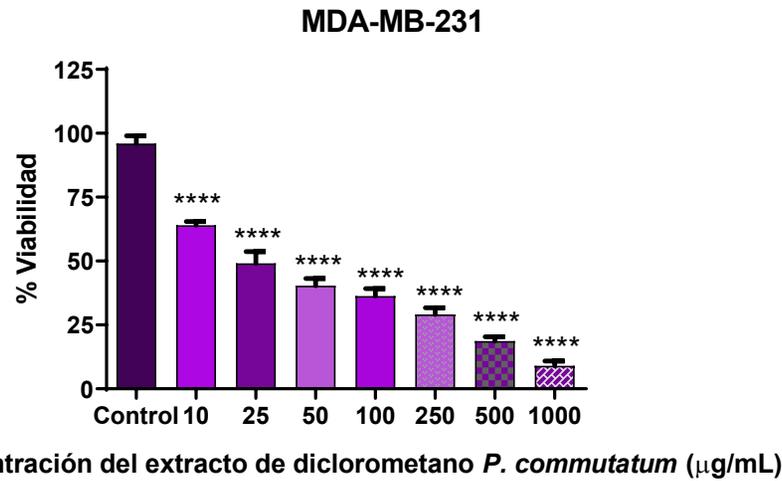
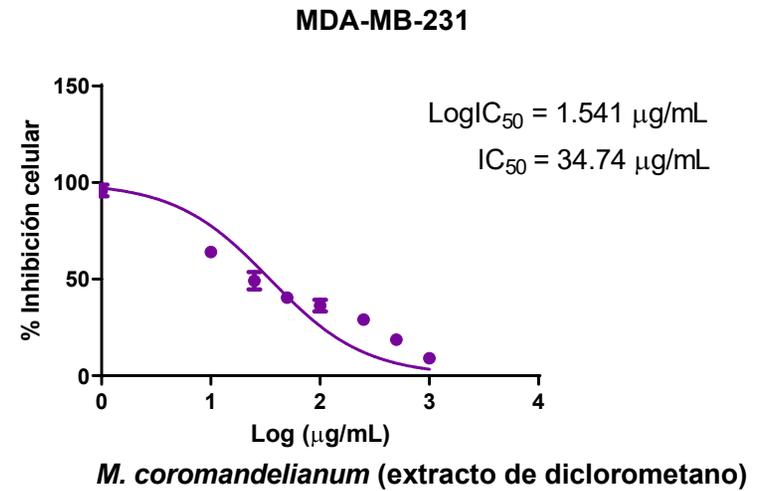


Figura 16. Efecto del extracto de *Malvastrum coromandelianum* en la proliferación de células MDA-MB-231 con 24 horas de tratamiento. A, Gráfica de barras del efecto antiproliferativo del extracto de diclorometano de *M. coromandelianum*; B, concentración-respuesta del efecto antiproliferativo del extracto de diclorometano de *M. coromandelianum*; C, Gráfica de barras del efecto antiproliferativo del extracto metanólico de *M. coromandelianum*; D, Curva concentración-respuesta del efecto antiproliferativo del extracto metanólico de *M. coromandelianum*. Los gráficos representan la media \pm SEM de tres experimentos independientes. Para el análisis estadístico se realizó un ANOVA de una vía con prueba *post hoc* de Dunnett (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$).

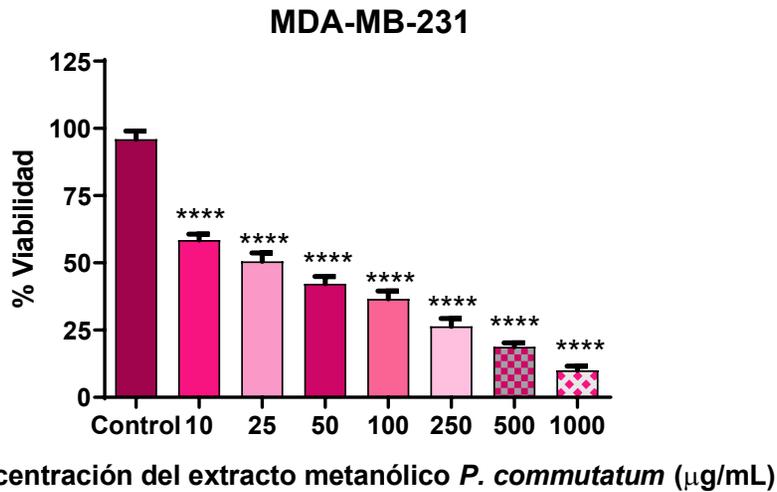
A



B



C



D

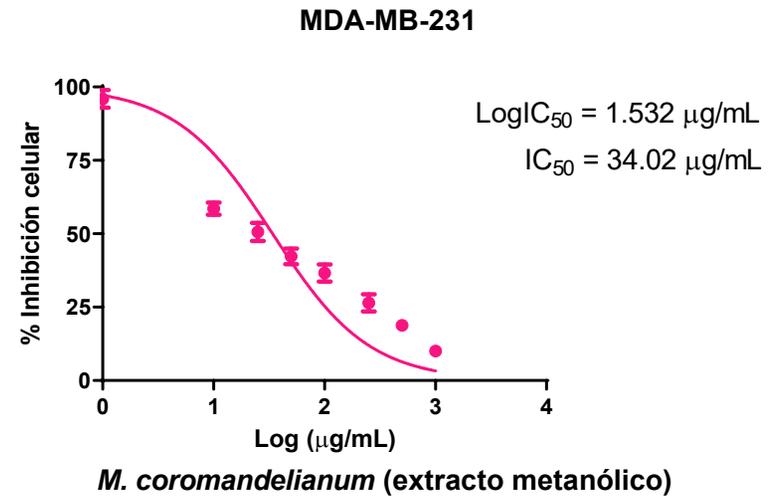


Figura 17. Efecto del extracto de *Piper commutatum* en la proliferación de células MDA-MB-231 con 24 horas de tratamiento. A, Gráfica de barras del efecto antiproliferativo del extracto de diclorometano de *P. commutatum*; B, Curva concentración-respuesta del efecto antiproliferativo del extracto de diclorometano de *P. commutatum*; C, Gráfica de barras del efecto antiproliferativo del extracto metanólico de *P. commutatum*; D, Curva concentración-respuesta del efecto antiproliferativo del extracto metanólico de *P. commutatum*. Los gráficos representan la media ± SEM de tres experimentos independientes. Para el análisis estadístico se realizó un ANOVA de una vía con prueba *post hoc* de Dunnett (* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, **** p < 0.0001).

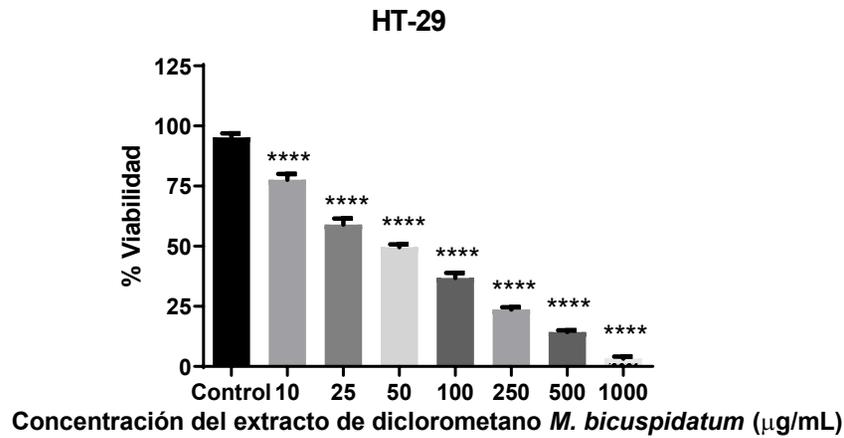
8.7.2 Curva de proliferación en células de cáncer de colon HT-29.

En el caso de las células de colon HT-29, se observó una disminución en la viabilidad celular, dependiente de la concentración, en presencia del extracto de diclorometano de *Malvastrum bicuspidatum* tras 24 horas de exposición a partir del primer tratamiento (10 µg/mL; Figura 18 A). El efecto antiproliferativo de este extracto presentó una CI_{50} de 48.64 µg/mL (Figura 18 B). De manera similar, el extracto metanólico de esta especie vegetal produjo una disminución estadísticamente significativa de la proliferación con respecto al control a partir de la concentración de 50 µg/mL hasta 1000 µg/mL (Figura 18 C), presentando una CI_{50} de 144.1 µg/mL (Figura 18 D).

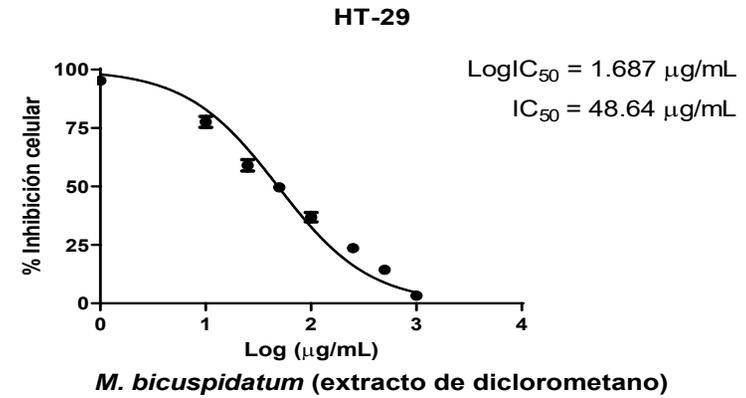
En el caso de los extractos de *Malvastrum coromandelianum*, tanto el extracto de diclorometano como el metanólico indujeron una disminución significativa de la proliferación de las células HT-29 a partir de la concentración de 10 µg/mL (Figura 19 A y C). *M. coromandelianum* presentó un efecto antiproliferativo con una CI_{50} de 22.59 µg/mL para el extracto de diclorometano y de 31.57 µg/mL para el metanólico (Figura 19 B y D).

Adicionalmente, se realizaron experimentos de proliferación en presencia y en ausencia de extractos de diclorometano y metanol de *Piper commutatum* y se observó que los extractos de esta planta produjeron una disminución en la viabilidad celular de las células HT-29, dependiente de la concentración. En ambos casos, se redujo la proliferación a partir de la concentración de 10 µg/mL (Figura 20 A y C). Los extractos de *P. commutatum* presentaron un efecto antiproliferativo con una CI_{50} de 56.68 µg/mL para el extracto de diclorometano y de 20.70 µg/mL para el extracto metanólico (Figura 20 B y D).

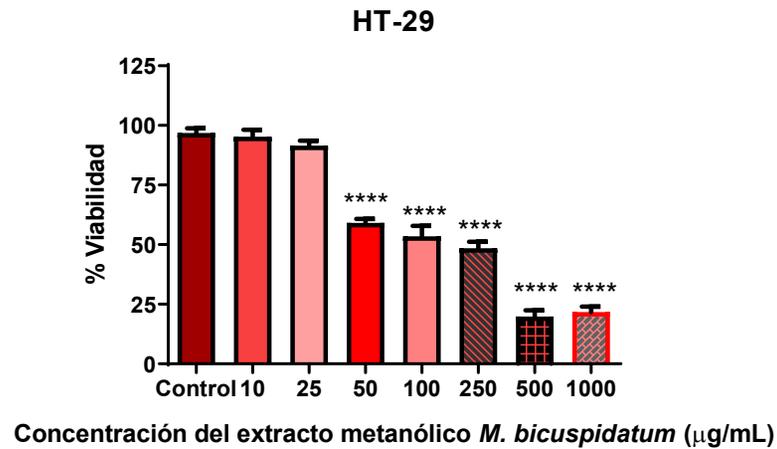
A.



B.



C.



D.

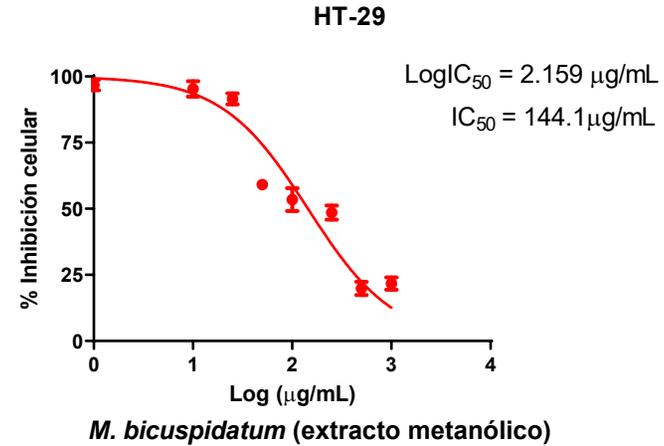


Figura 18. Efecto del extracto de *Malvastrum bicuspidatum* sobre la proliferación de células HT-29 con 24 horas de tratamiento. A, Gráfica de barras del efecto antiproliferativo del extracto de diclorometano de *M. bicuspidatum*; B, concentración-respuesta del efecto antiproliferativo del extracto de diclorometano de *M. bicuspidatum*; C, Gráfica de barras del efecto antiproliferativo del extracto metanólico de *M. bicuspidatum*; D, Curva concentración-respuesta del efecto antiproliferativo del extracto metanólico de *M. bicuspidatum*. Los gráficos representan la media ± EE de tres experimentos independientes. Para el análisis estadístico se realizó un ANOVA de una vía con prueba *post hoc* de Dunnett (* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, **** p < 0.0001).

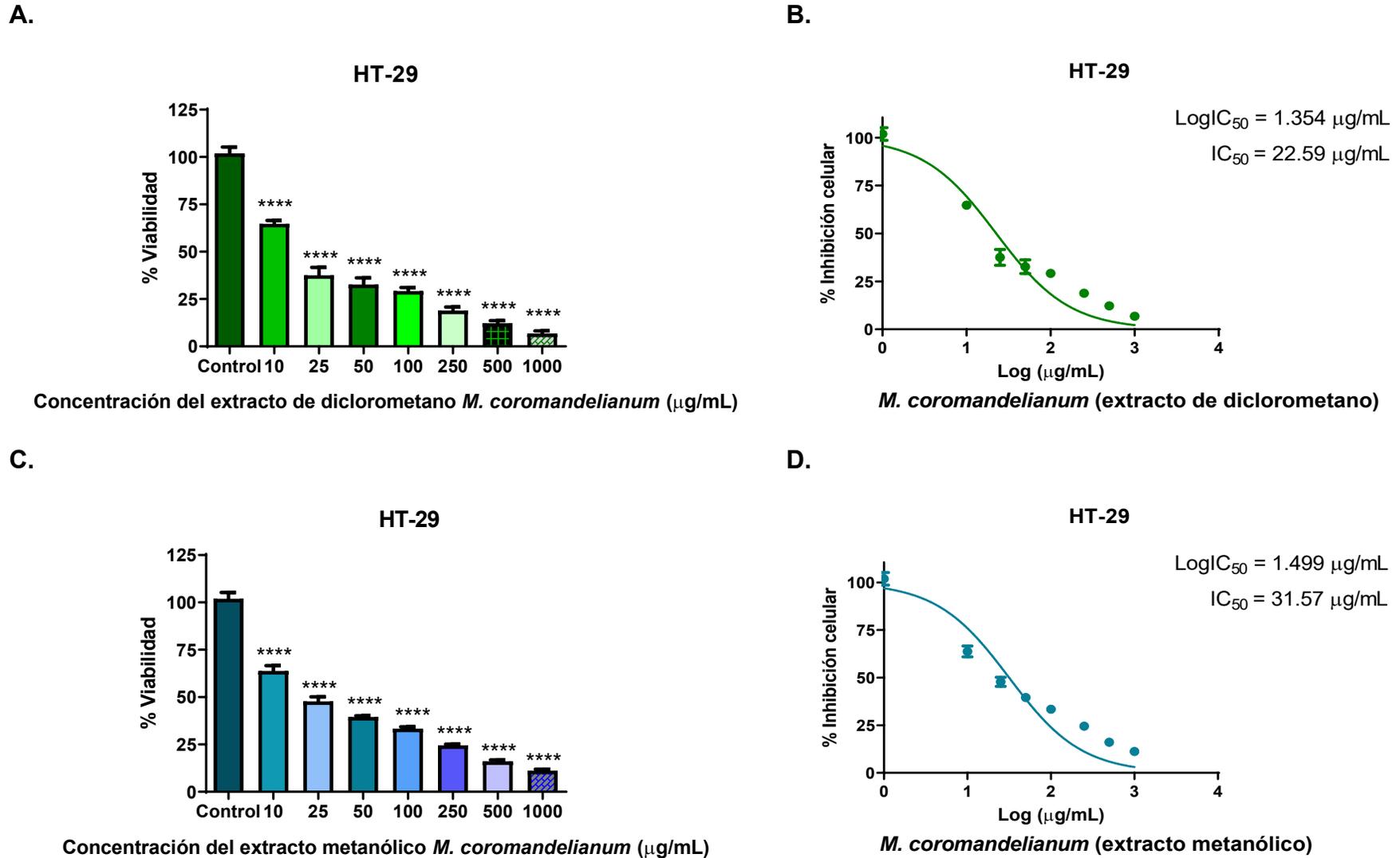
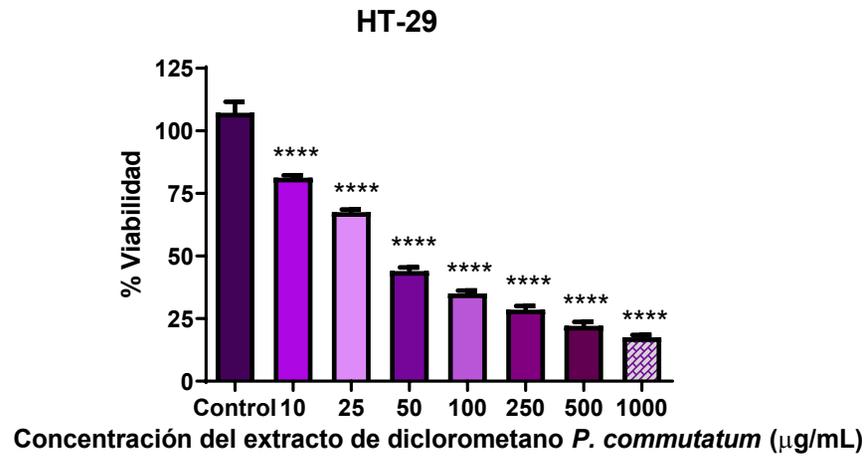
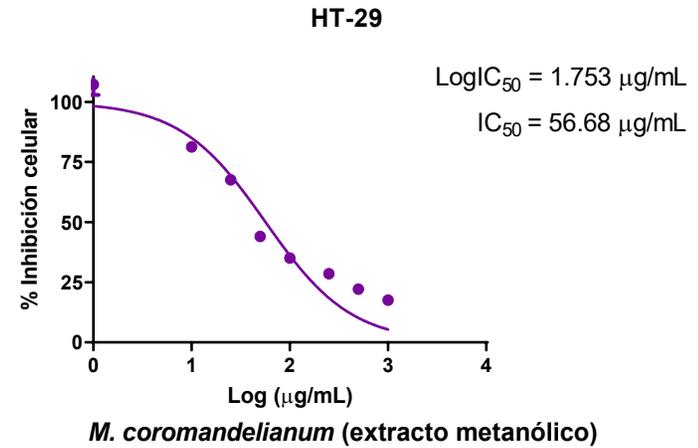


Figura 19. Efecto del extracto de *Malvastrum coromandelianum* en la proliferación de células HT-29 con 24 horas de tratamiento. A, Gráfica de barras del efecto antiproliferativo del extracto de diclorometano de *M. coromandelianum*; B, Curva concentración-respuesta del efecto antiproliferativo del extracto de diclorometano de *M. coromandelianum*; C, Gráfica de barras del efecto antiproliferativo del extracto metanólico de *M. coromandelianum*; D, Curva concentración-respuesta del efecto antiproliferativo del extracto metanólico de *M. coromandelianum*. Los gráficos representan la media \pm SEM de tres experimentos independientes. Para el análisis estadístico se realizó un ANOVA de una vía con prueba *post hoc* de Dunnett (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$).

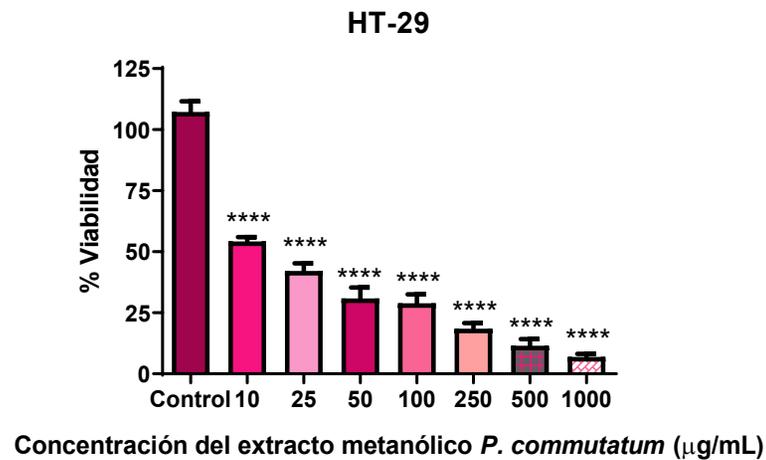
A.



B.



C.



D.

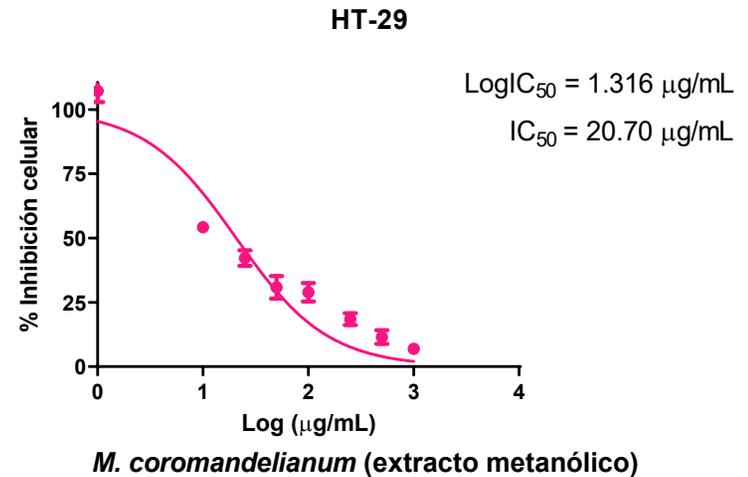


Figura 20. Efecto del extracto de *Piper commutatum* en la proliferación de células HT-29 con 24 horas de tratamiento. A, Gráfica de barras del efecto antiproliferativo del extracto de diclorometano de *P. commutatum*; B, Curva dosis-respuesta del efecto antiproliferativo del extracto de diclorometano de *P. commutatum*; C, Gráfica de barras del efecto antiproliferativo del extracto metanólico de *P. commutatum*; D, Curva concentración-respuesta del efecto antiproliferativo del extracto metanólico de *P. commutatum*. Los gráficos representan la media \pm EE de tres experimentos independientes. Para el análisis estadístico se realizó un ANOVA de una vía con prueba *post hoc* de Dunnett (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$).

8.7.3 Comparación del efecto antiproliferativo en las líneas celulares MDA-MB-231 y HT-29.

Las CI_{50} obtenidas en la línea celular de cáncer de mama MDA-MB-231 para los extractos de diclorometano y metanólicos fueron las siguientes: 34.74 $\mu\text{g/mL}$ y 34.02 $\mu\text{g/mL}$ para *Piper commutatum*, 117.4 $\mu\text{g/mL}$ y 153.6 $\mu\text{g/mL}$ para *Malvastrum coromandelianum*, 117.4 $\mu\text{g/mL}$ y 291.3 $\mu\text{g/mL}$ para *Malvastrum bicuspidatum*, respectivamente (Figura 10).

Las CI_{50} calculadas para la línea celular de cáncer de colon HT-29 para los extractos de diclorometano y metanol fueron las siguientes: 56.68 $\mu\text{g/mL}$ y 20.7 $\mu\text{g/mL}$ para *Piper commutatum*, 22.59 $\mu\text{g/mL}$ y 31.57 $\mu\text{g/mL}$ para *Malvastrum coromandelianum*, 48.64 $\mu\text{g/mL}$ y 144.1 $\mu\text{g/mL}$ para *Malvastrum bicuspidatum*, respectivamente (Figura 10).

Comparativa de las CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) obtenidas para cada extracto por el metodo de MTT.

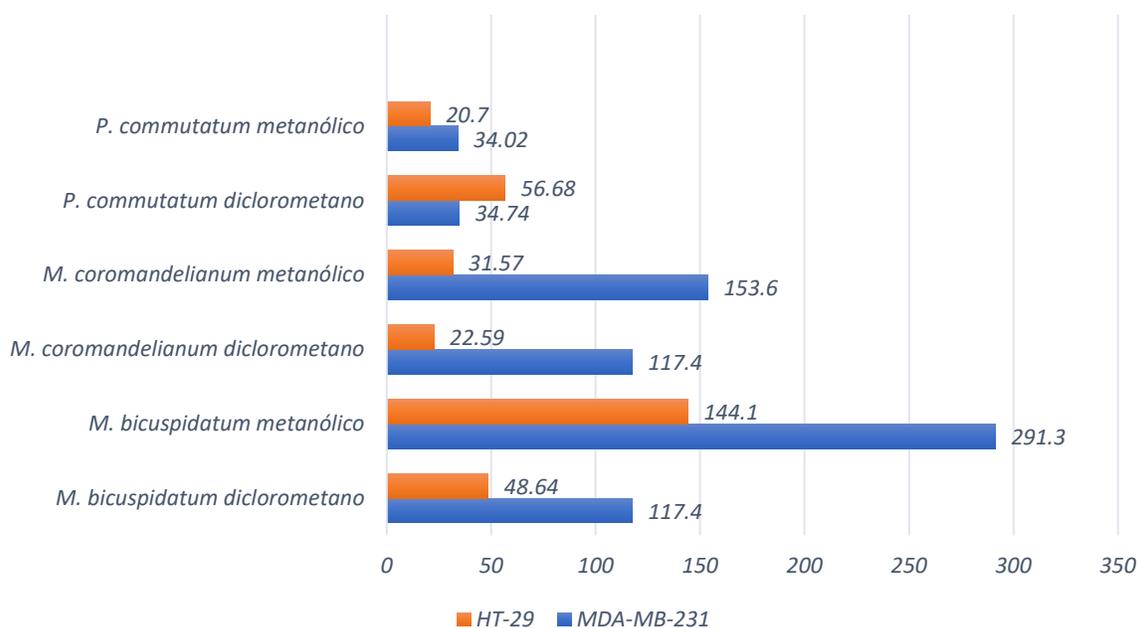


Figura 21. Gráfico que muestra las CI_{50} de los 6 extractos evaluados en las líneas celulares de cáncer de colon HT-29 y de cáncer de mama MDA-MB-231.

8.8. Análisis químico por CG-EM/QTOF de los extractos de diclorometano de las tres especies vegetales seleccionadas.

El análisis químico por CG-EM/QTOF de los extractos de diclorometano de las 3 especies evaluadas (*M. coromandelianum*, *M. bicuspidatum* y *P. commutatum*) se realizó en el Centro de Investigación en Ciencias Aplicada y Tecnología Avanzada del Instituto Politécnico Nacional (CICATA). Este análisis se llevo a cabo mediante el software MSD ChemStation E.01.00.237 (Agilent Technologies, Inc.) y la biblioteca NIST.8 (National Institute of Standards and technology, versión 8).

Los criterios para la selección de los metabolitos reportados fueron: Qual (porcentaje de similitud de los espectros del analito en investigación y el reportado en la base NIST.8) mayor o igual a 60; correlación con orden de elución (peso molecular) y Área (Unidad de Abundancia fuera de la zona de ruido del equipo).

El cromatograma y los metabolitos identificados en cada uno de los extractos se muestran a continuación: figura 22 y tabla 4 para el extracto de diclorometano de *M. coromandelianum*; figura 23 y tabla 5 para el extracto de diclorometano de *M. bicuspidatum* y figura 24 y tabla 6 para el extracto de diclorometano de *P. commutatum*.

Es importante mencionar que las estructuras, fórmula molecular y nombre se obtuvieron de la búsqueda del No. CAS en la biblioteca de PubChem. Como nota adicional, se reporta el tiempo de retención (RT), porcentaje de similitud (Qual) y el área en unidades de absorbancia (UA).

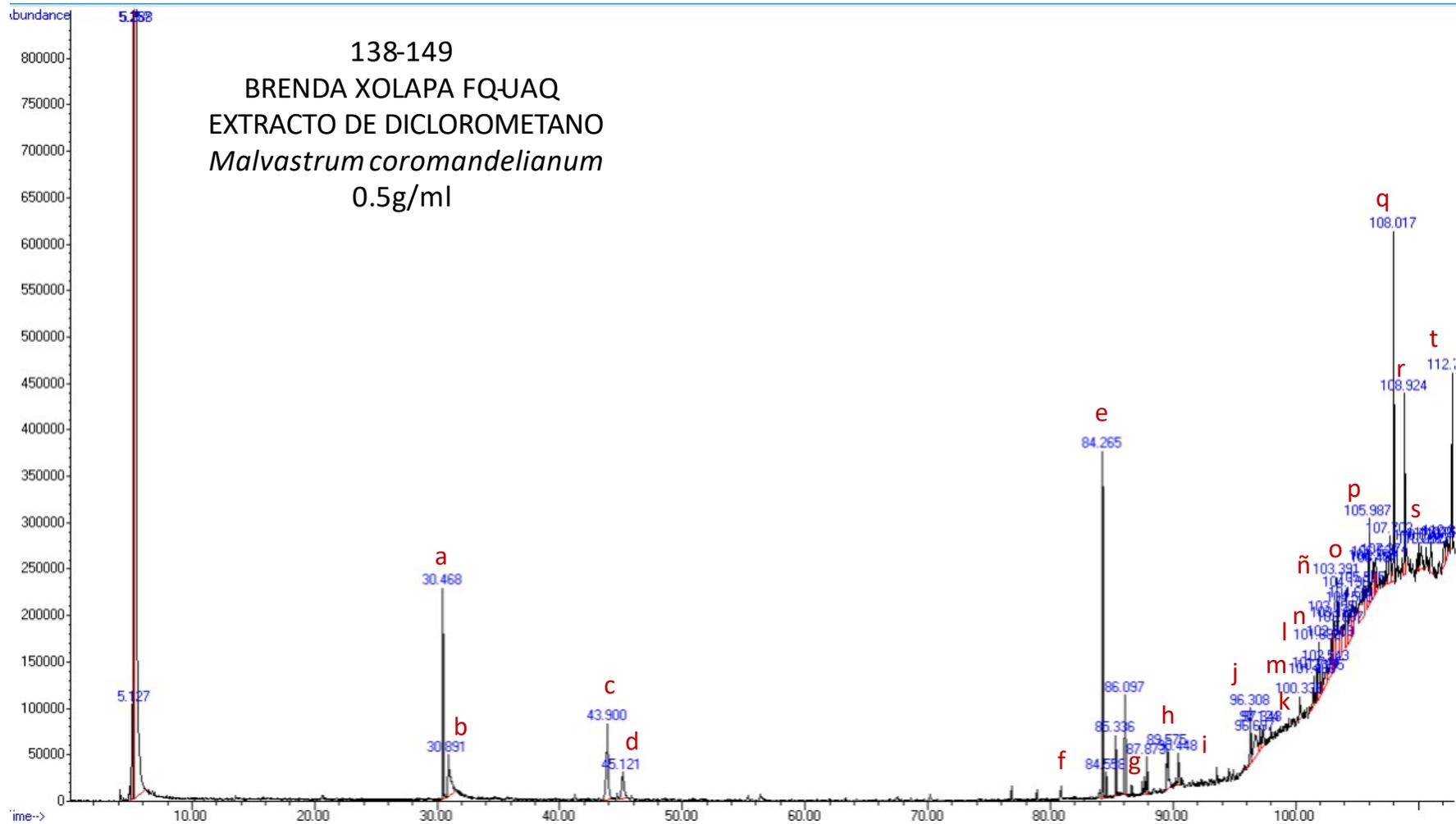
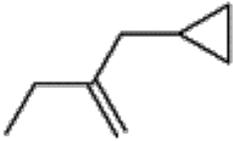
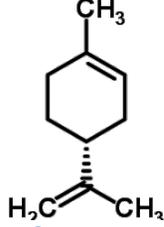
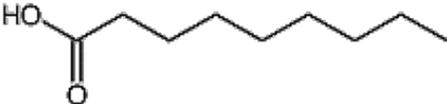
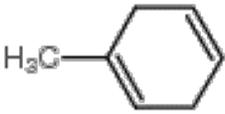
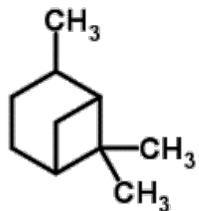
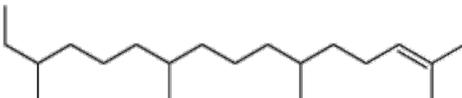
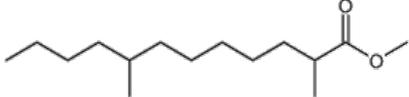
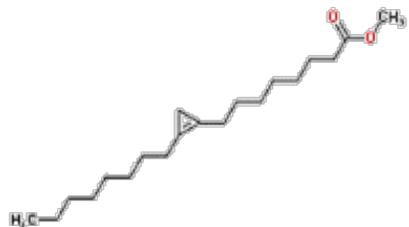
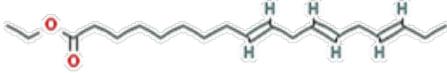
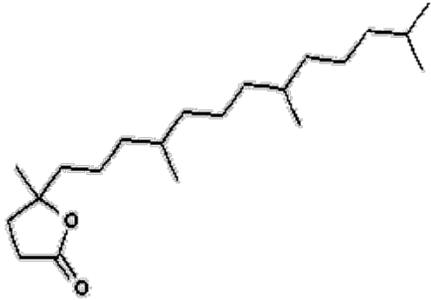
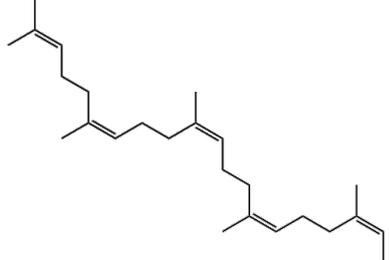
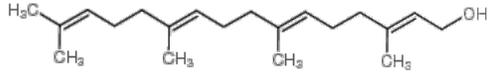


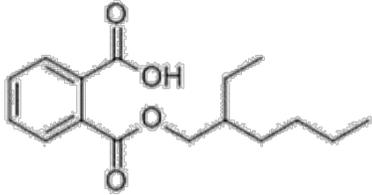
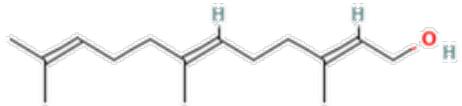
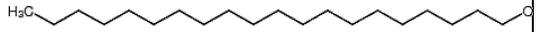
Figura 22. Cromatograma correspondiente al extracto de diclorometano de *Malvastrum coromandelianum*. Las letras corresponden al ID mostrado en la Tabla 4 como parte de la señalización de los metabolitos identificados.

Tabla 4: Metabolitos identificados en el extracto de diclorometano de la planta *Malvastrum coromandelianum* por CG-MS.

ID	Nombre/ Clasificación	No. CAS	RT (s)	Área (UA)	Qual (%)	Estructura / Fórmula molecular	PM (g/mol)
a	(2-metilenbutil) ciclopropano /Cicloalcano	74685-56-6	30.468	7732765	65	 C_8H_{14}	110.2
b	D-Limoneno / Monoterpeno	5989-27-5	30.899	6388942	94	 $C_{10}H_{16}$	136.2
c	Ácido nonanoico /Acido carboxilico	112-05-0	43.889	8905960	65	 $C_9H_{18}O_2$	158.2
d	1-metilciclohexa-1,4-dieno / cicloalcadieno	4313-57-9	45.118	3800307	65	 C_7H_{10}	94.1

e	Pinano / Monoterpeno	4795-86-2	84.266	14434133	90	 $C_{10}H_{18}$	138.2
f	2,6,10,14-tetrametil- 2-hexadeceno /Fitano / alcano isoprenoide	56554-34-8	84.555	1042243	83	 $C_{20}H_{40}$	280.5
g	Palmitato de metilo / Ester	112-39-0	87.877	1805621	65	 $C_{17}H_{34}O_2$	270.4
h	Ácido palmítico / Ácido carboxílico	57-10-3	89.569	3994486	87	 $C_{16}H_{32}O_2$	256.4
i	Éster metílico del ácido 2,8- dimetildodecanoico / éster	55955-80-1	90.445	1596058	94	 $C_{15}H_{30}O_2$	242.3
j	Esterculato de metilo / Ester	3220-60-8	96.309	3599064	65	 $C_{20}H_{36}O_2$	308.4

k	Éster etílico del ácido 9,12,15-octadecatrienoico /Ester	34079-45-3	97.338	2731131	70	 $C_{20}H_{34}O_2$	306.5
m	4,8,12,16-tetrametilheptadecan-4-olida / éster	96168-15-9	101.464	2499468	78	 $C_{21}H_{40}O_2$	324.5
l	2,6,10,14,18-eicosapentaeno, 2,6,10,14,18-pentametil-, (6Z,10Z,14Z,18Z)- / ácido graso	75581-03-2	101.747	2499468	93	 $C_{25}H_{42}$	342.6
n	Geranilgeraniol /diterpeno	24034-73-9	101.883	3069845	72	 $C_{20}H_{34}O$	290.4
ñ	Octacosano /alcano	630-02-4	103.389	9260623	93	 $C_{28}H_{58}$	394.7

o	Ftalato de mono(2-etilhexilo) /éster	4376-20-9	104.200	4099400	72	 $C_{16}H_{22}O_4$	278.3
p	Heptacosano/ alcano	593-49-7	105.989	2554229	93	 $C_{27}H_{56}$	380.7
q	Escualeno / terpeno	111-02-4 007683-64-9	108.017	13318304	99	 $C_{30}H_{50}$	410.7
r	Docosano / alcano	629-97-0	108.924	11153644	97	 $C_{22}H_{46}$	310.6
s	Farnesol / sesquiterpeno	<u>106-28-5</u>	110.031	10034855	65	 $C_{15}H_{26}O$	222.3
t	Heneicosano / alcano	629-94-7	112.748	2881304	97	 $C_{21}H_{44}$	296.5

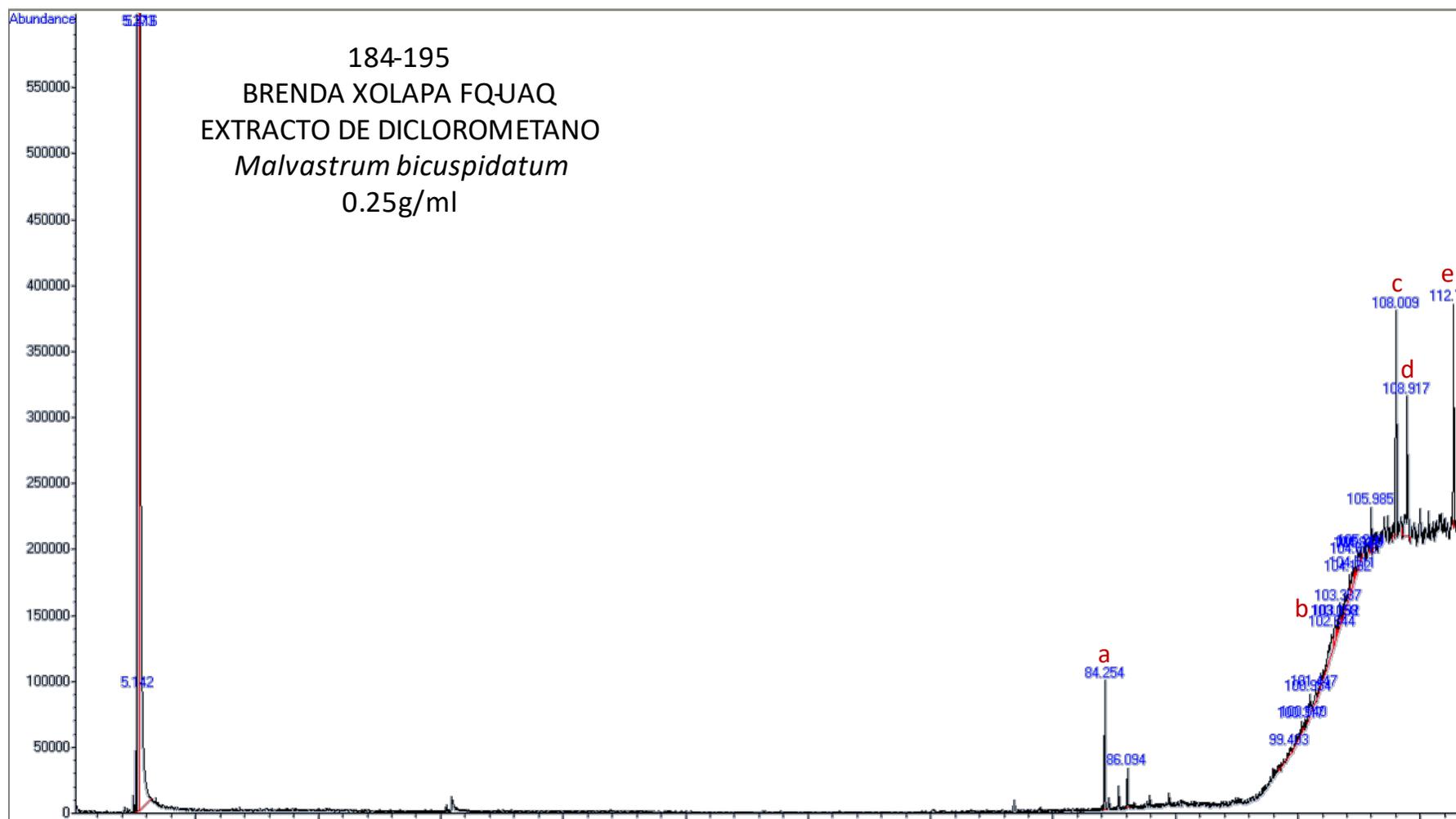
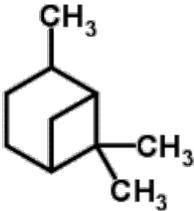
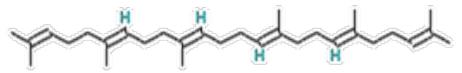


Figura 23. Cromatograma correspondiente al extracto de diclorometano de *Malvastrum bicuspidatum*. Las letras corresponden al ID mostrado en la Tabla 5 como parte de la señalización de los metabolitos identificados.

Tabla 5: Metabolitos identificados por CG-MS en el extracto de diclorometano de la planta *Malvastrum bicuspidatum*.

ID	Nombre/ Clasificación	No. CAS	RT	Área (UA)	Qual (%)	Estructura / Fórmula molecular	PM (g/mol)
a	Pinano /Monoterpeno	4795-86-2	84.253	3765920	60	 $C_{10}H_{18}$	138.250
b	Octadecano / alcano	593-45-3	112.741	7703543	94	 $C_{18}H_{38}$	254.494
c	Octacosano /alcano	630-02-4	103.389	9260623	93	 $C_{28}H_{58}$	394.7
d	Escualeno / terpeno	111-02-4	108.010	16786294	97	 $C_{30}H_{50}$	410.718
e	Triacontano /alcano	638-68-6	108.918	23422818	95	 $C_{30}H_{62}$	422.81300

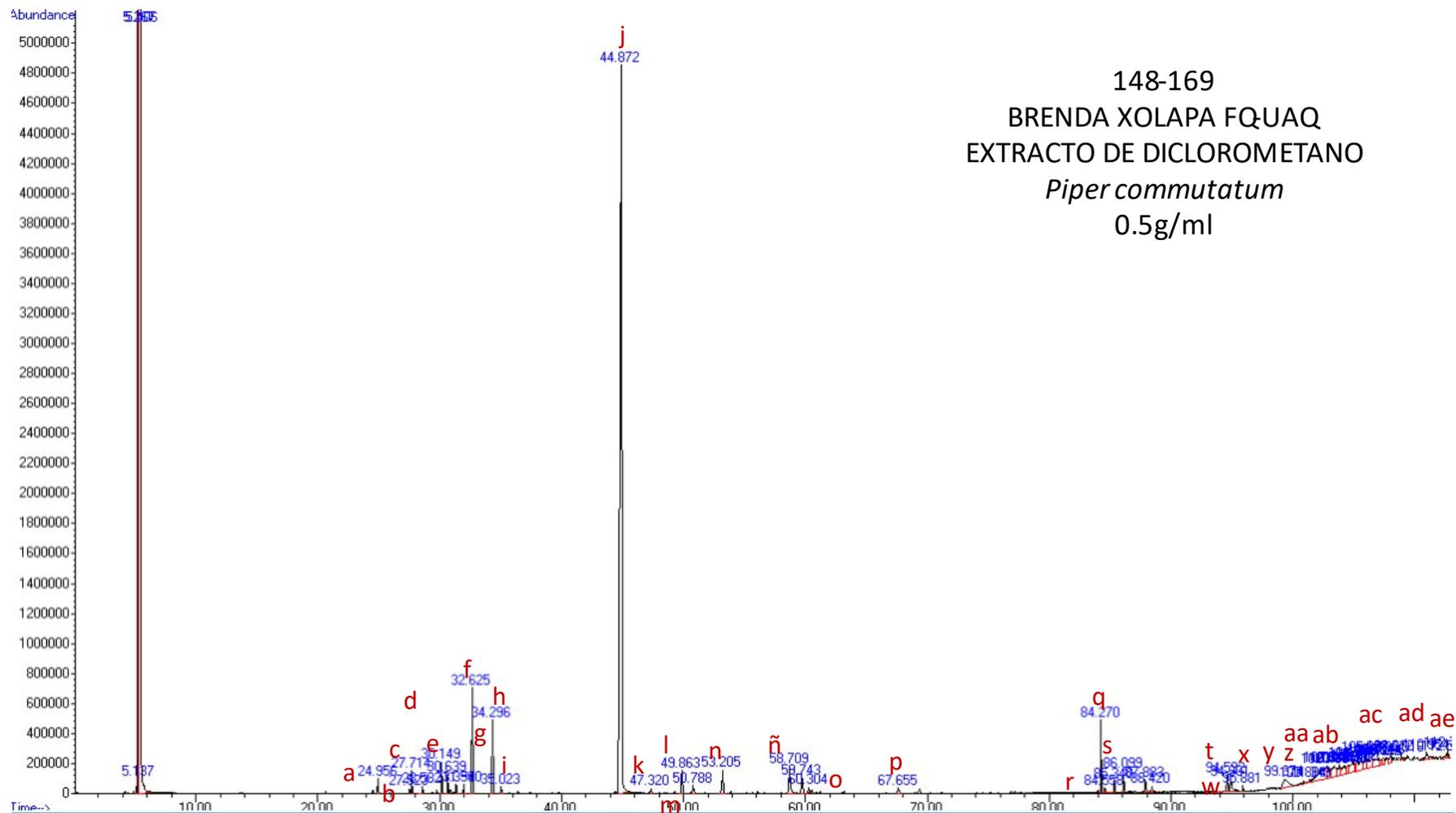
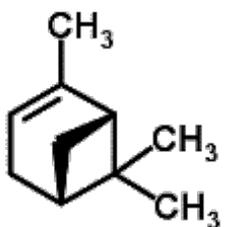
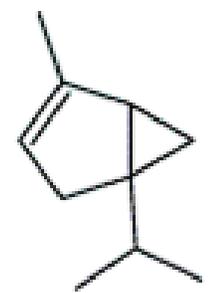
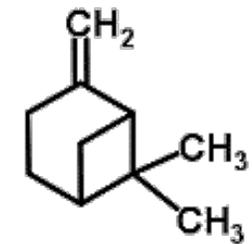
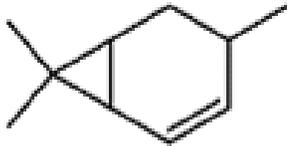
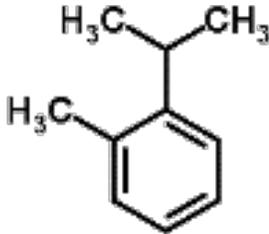
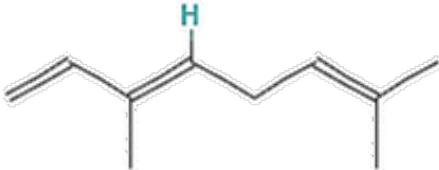
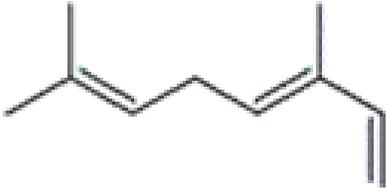
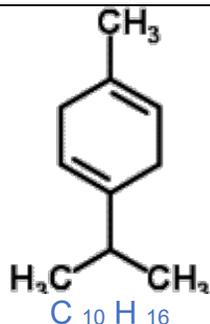
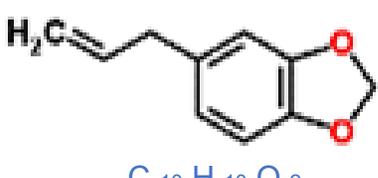
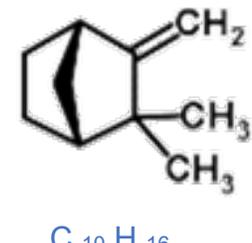
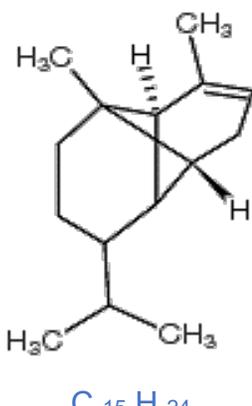


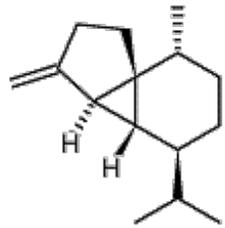
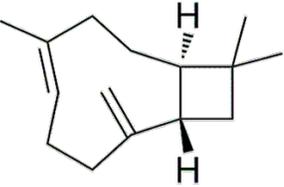
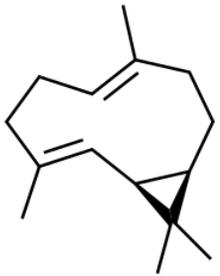
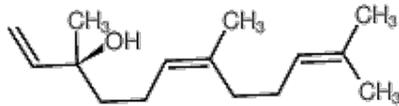
Figura 24. Cromatograma correspondiente al extracto de diclorometano de *Piper commutatum*. Las letras corresponden al ID mostrado en la Tabla 6 como parte de la señalización de los metabolitos identificados.

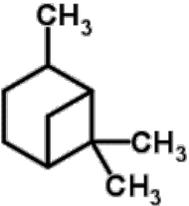
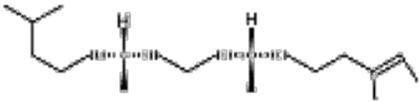
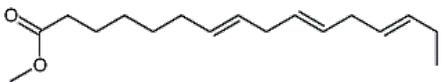
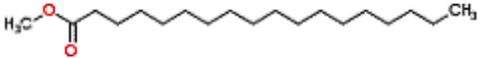
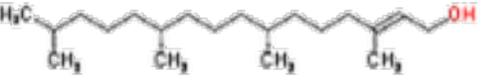
Tabla 6: Metabolitos identificados por CG-MS en el extracto de diclorometano de la planta *Piper commutatum*.

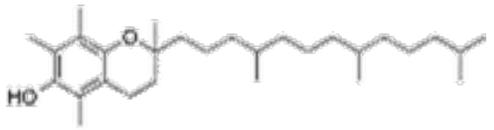
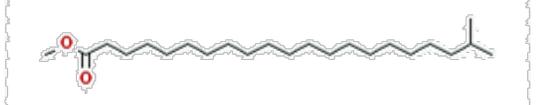
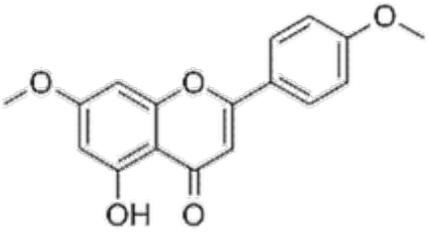
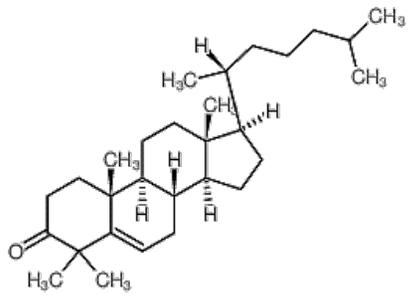
ID	Nombre/ Clasificación	No. CAS	RT	Área (UA)	Qual (%)	Estructura / Fórmula molecular	PM (g/mol)
a	α -pineno / terpeno	80-56-8	24.958	3305494	97	 $C_{10}H_{16}$	136.234
b	α -tuyeno / terpeno	2867-05-2	27.527	1030345	72	 $C_{10}H_{16}$	136.23400
c	β -pineno / terpeno	127-91-3	27.713	5242398	94	 $C_{10}H_{16}$	136.234
d	7-metil-3-metilenoc-1,6-dieno / terpeno	123-35-3	28.582	1637328	91		136.234

						$C_{10}H_{16}$	
e	4(5)-careno / terpeno	29050-33-7	30.146	7038564	95		136.23400
						$C_{10}H_{16}$	
f	o-cimeno / monoterpeno	527-84-4	30.642	4150483	94		134.218
						$C_{10}H_{14}$	
g	β -ocimeno / monoterpeno	15616 003779-61- 1	31.356	1878173	97		136.23
						$C_{10}H_{16}$	
h	(Z)-3,7-dimetilotta- 1,3,6,-trieno / monoterpeno	3338-55-4	31.961	1848804	95		136.23400
						$C_{10}H_{16}$	

i	γ-terpineno / terpeno	99-85-4	32.624	23395951	97	 <chem>CC(C)C1=CC=C(C=C1)C</chem> $C_{10}H_{16}$	136.234
j	Safrol/ terpeno	94-59-7	44.860	2501440	98	 <chem>C=CCc1ccc2c(c1)OCO2</chem> $C_{10}H_{10}O_2$	162.185
k	(+)-canfeno / monoterpeno biciclico	79-92-5	47.319	41385407	90	 <chem>CC1(C)C2=CC(=O)C3CC2C1C3</chem> $C_{10}H_{16}$	136.234
l	α-copaeno/ sesquiterpenos	3856-25-5	49.862	1319082	96	 <chem>CC(C)C12C=CC3C1(C)C(C)C2C3</chem> $C_{15}H_{24}$	204.35100

m	β -cubeneno/ terpeno	13744-15-5	50.789	7543669	95	 $C_{15}H_{24}$	204.35100
n	β -cariofileno / sesquiterpeno biciclico	87-44-5	53.202	3272934	97	 $C_{15}H_{24}$	204.351
ñ	Pentadecano / alcano	629-62-9	59.742	16216636	98	 $C_{15}H_{32}$	212.41500
o	Biciclogermacreno sesquiterpeno	24703-35-3	60.302	7847718	89	 $C_{15}H_{24}$	204.35
p	Nerolidol, cis-(+) / sesquiterpeno	142-50-7	67.653	2361231	90	 $C_{15}H_{26}O$	222.36600

q	Pinano/ terpeno	4795-86-2	84.272	3469792	83	 $C_{10}H_{18}$	138.250
r	2-hexadeceno, 3,7,11,15-tetrametil-, [R-[R*,R*-(E)]]- / isoprenoide	14237-73-1	84.555	19001983	91	 $C_{20}H_{40}$	280.53200
s	Palmitato de metilo /Ester	112-39-0	87.883	1655971	97	 $C_{17}H_{34}O_2$	270.451
t	Linoleato de metilo /ácido graso	112-63-0	94.590	3333043	99	 $C_{19}H_{34}O_2$	294.472
w	Ácido 7,10,13-hexadecatrienoico, éster metílico / ácido graso	56554-30-4	94.899	6215014	96	 $C_{17}H_{28}O_2$	264.40300
x	Estearato de metilo / Ester	112-61-8	95.884	8477542	97	 $C_{19}H_{38}O_2$	298.504
y	Fitol/ alcohol diterpénico acíclico	150-86-7	99.379	1478903	64	 $C_{20}H_{40}O$	296.531

z	Vitamina e / poliprenoide	10191-41-0	102.700	10370602	81	 $C_{29}H_{50}O_2$	430.706
aa	20-metil-heneicosanoato de metilo / Ester	1000336-47-4	103.814	38824850	92	 $C_{23}H_{46}O_2$	354.6
ab	Tetracosano / alcano	646-31-1	105.983	8786573	86	 $C_{24}H_{50}$	338.654
ac	Escualeno / terpeno	7683-64-9	108.010	14262309	86	 $C_{30}H_{50}$	410.718
ad	5-hidroxi-4',7-dimetoxi-flavona / sub grupo Flavonoide (Flavona)	5128-44-9	110.952	6307070	83	 $C_{17}H_{14}O_5$	298.290
ae	Colest-5-en-3-ona,4,4-dimetil- / fitoesterol	2220-42-0	112.574	7658913	55	 $C_{29}H_{48}O$	412.69100

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

9.1 Búsqueda bibliográfica de los usos medicinales y efectos farmacológicos de la flora del Bajío.

La región del Bajío y zonas adyacentes comprende parte de los Estados de Aguascalientes, Jalisco (Oriente), Guanajuato, Querétaro, San Luis Potosí, Michoacán (Franja Norte) y Zacatecas (Ver figura 25).



Figura 25: Mapa de México donde remarca la región del Bajío (INEGI, 2019).

El Bajío es una cuenca sedimentaria continental ubicada en el centro de México; está caracterizada por su relativa baja topografía con respecto a sus alrededores (Botero y col., 2015). La cubierta vegetal en esta Región se encuentra conformada por bosque de encino, bosque de coníferas, bosque tropical caducifolio y matorral subtropical, matorral xerófilo y pastizal (Suarez y col., 2015). Además, se registran pequeños enclaves de bosque mesófilo de montaña, vegetación acuática y subacuática, así como bosque de galería (Suarez y col., 2015). Aunque se han publicado varios trabajos relacionados con la identificación de las especies de ésta zona, aun es poco lo que se conoce de la flora del Bajío. En los últimos 20 años, el

Centro Regional del Bajío, perteneciente al Instituto de Ecología, A. C., ha venido desarrollando el proyecto Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes, donde investigadores han explorado la región para actualizar el inventario de su riqueza florística; las principales contribuciones corresponden al grupo de investigación de Rzedowski y Calderón, quienes desde el 2003 han realizado más de 150 tratamientos de familias o grupos taxonómicos de especies vegetales de la zona (INECOL, 2021). Sin embargo, la región del Bajío no cuenta con un estudio florístico completo donde se resalte la relevancia de la diversidad vegetal que posee ni tampoco se ha validado y protegido los sitios de conserva de las especies.

Dentro de la Región del Bajío se encuentra el Estado de Querétaro, como se mencionó anteriormente. Según Cabral y colaboradores en 2017, en función de la gran diversidad fisiográfica, geológica y climática, la biodiversidad vegetal de Querétaro incluye casi todas las grandes formaciones que se conocen en México dentro de su territorio (Cabral y col., 2017). Pese a ser un Estado de superficie reducida, se pueden distinguir bosques tropicales caducifolios, matorrales xerófilos, pastizales, bosques de Quercus, bosques de coníferas, bosques mesófilos de montaña, bosques tropicales subcaducifolios, bosques espinosos, vegetación acuática y subacuática. Esta biodiversidad convierte al Estado en un valioso nicho ecológico que vale la pena rescatar, desde su especificación florística hasta la documentación del uso de las especies (Cabral y col., 2017).

En cuanto al uso tradicional de especies de esta región, se sabe que en las comunidades rurales aún se sigue haciendo uso de especies vegetales para tratar diversas patologías, pero no se ha realizado una investigación formal, donde quede el registro de dichos usos. Nava y Zamora, en 2001, se dieron a la tarea de realizar una investigación en campo, donde visitaron 25 localidades de los municipios de Arroyo Seco, Cadereyta, Jalpan, Landa, Pinal de Amoles y San Joaquín del Estado de Querétaro, realizando un total de 20 expediciones botánicas con la finalidad de recabar la información relacionada con el conocimiento tradicional de la flora

medicinal, mediante el diálogo informal con curanderos y amas de casa, realizando caminatas con ellos o llevando las plantas a su domicilio; de esta manera estos investigadores colectaron 116 especies medicinales, de las cuales a 69 se les encontró un uso medicinal distinto al reportado en la literatura y, con anterioridad, ya se conocía un uso para 47 (Nava y Zamora, 2001). Las familias con mayor número de especies de uso medicinal en la zona de estudio fueron: Compositae (13), Labiatae (7), Leguminosae (7) y Solanaceae (7). En el 2015, Ferriol Molina concluyó un recuento de la diversidad de especies de la familia Compositae presentes en la región del Bajío. Este investigador reportó los registros que documentan su presencia, junto con las coordenadas geográficas de los sitios de recolecta; dichos datos sirvieron para elaborar un mapa que muestra su distribución dentro de la zona de estudio (Ver Figura 26) (Ferriol, 2015).

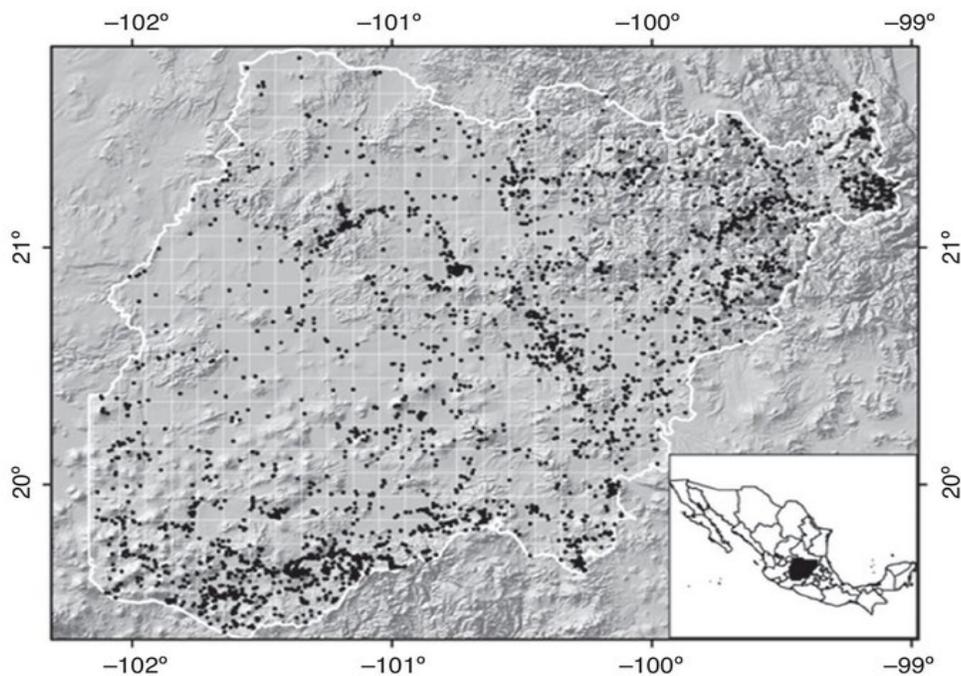


Figura 26. Sitios de colecta de especies de la familia Asteraceae registradas en la región del Bajío y zonas adyacentes (Ferriol, 2015).

La información sobre los sitios de recolecta que documentan la distribución de las especies en la zona de estudio, junto con la de las variables climáticas, se

incorporaron al programa MaxEnt para generar los modelos de nicho ecológico (Ferriol, 2015). Desde entonces, no se han realizado esfuerzos para documentar las especies de la zona y conservar los conocimientos etnomédicos de las especies y mucho menos se ha propuesto realizar una base de datos que contenga toda esta información etnobotánica de la zona. Por esta razón, nuestro equipo de trabajo recopiló toda esta información etnomédica de las especies medicinales del Bajío con la finalidad de actualizar este acervo importante para el País, preservar los usos medicinales de las especies del Estado y fomentar la investigación en el campo de la Química Medicinal, cuidando siempre la prevalencia e integridad de las especies. Se encontró que las familias predominantes con usos medicinales en la entidad son Fabaceae, Compositae, Verbenaceae, Solanaceae y Apocynaceae. Esta información contrasta con la reportada por Nava y Zamora en el 2001. Esta aparente discrepancia se debe a que en el presente estudio se recopiló información de un mayor número de especies y se tomaron datos de diversas fuentes de información que permitieron ampliar los registros.

Estas familias predominantes forman parte de la flora principal del Estado de Querétaro. Algunas características generales de estas familias se mencionan a continuación. Las fabáceas (Fabaceae) o leguminosas (Leguminosae) son una familia del orden de las fabales (Castañeda y col., 2017). Esta familia reúne árboles, arbustos y hierbas perennes o anuales, fácilmente reconocibles por su fruto tipo legumbre y sus hojas compuestas y estipuladas. La gran mayoría de las Fabáceas viven en simbiosis con bacterias fijadoras del nitrógeno libre en la atmósfera. Debido a esta simbiosis las leguminosas juegan un importante papel en el ciclo del nitrógeno en la tierra (Castañeda y col., 2017). Algunos ejemplos de especies de esta familia y sus usos en la medicina tradicional son: 1) *Senna versicolor*, la cual es usada para tratar dolores de cabeza por hipertensión arterial; se toma también para tratar la gastritis (Solís, 2000). Para desinflamar un golpe y calmar el dolor, las hojas se soasan y se amarran en la parte afectada (Martínez y Madrigal, 1997). 2)

Spartium junceum se hierven las ramas y se emplean en lavados para calmar el dolor de cabeza y los procesos febriles, y se toma la infusión de las ramas para regular la menstruación (Cabrera, 2003). 3) *Trifolium repens* se hierva la raíz y se toma para tratar la gastritis (UNAM, 2018).

Las asteráceas (Asteraceae), anteriormente llamadas compuestas (Compositae), son la familia de Angiospermas con mayor riqueza y diversidad biológica. La familia se caracteriza por presentar las flores dispuestas en una inflorescencia compuesta denominada capítulo, la cual está rodeada de una o más filas de brácteas (involucro) (Ferriol, 2015). La familia Compositae registra en la región del Bajío un total de 630 especies (Villaseñor y Ortiz, 2012), de las cuales 330 son endémicas de México y 34 lo son a escala regional, es decir, conocidas solamente en la región del Bajío. Algunas de las plantas medicinales de esta familia son *Matricaria chamomilla*, *Calendula officinalis*, *temisia vulgaris*, *Helianthus annuus*, *Carthamus tinctorius* principalmente. Estas especies tienen numerosos usos medicinales entre los que destacan: parasitosis, infecciones bacterianas, dolor y manejo de presión arterial alta (Cabral, 2017).

Verbenaceae o verbenáceas es una amplia familia de plantas, principalmente tropicales, de árboles, arbustos y hierbas, la cual presenta una elevada diversidad. Alrededor de 800 especies entre herbáceas o leñosas se desarrollan esencialmente en zonas tropicales, donde algunas crecen como arbustos y otras como hierbas (Martínez, 2018). Esta familia incluye géneros que proporcionan valiosos aceites esenciales, frutos comestibles, gomas y taninos (Eggleton, 2022). Algunos ejemplos de especies medicinales son: 1) *Lippia alba* se emplea en medicina popular para tratar afecciones de vías aéreas superiores como el catarro, males digestivos, dolores de cabeza y dolores menstruales, utilizándose para ello infusiones de flores y raíces (INCUPO, 1998). 2) *Aloysia polystachya* se utiliza en infusiones de hojas y flores para tratar dolores de estómago, empachos, náuseas y vómitos. 3) *Aloysia citriodora* se utiliza en infusiones de hojas y gajos nuevos como digestivo,

especialmente en casos de dolores de estómago y para tratar palpitaciones cardíacas (Ribeiro Rodríguez y col., 1996).

Las solanáceas (Solanaceae) son una familia de plantas herbáceas con las hojas alternas, simples y sin estípulas pertenecientes al orden Solanales, de las dicotiledóneas y comprende aproximadamente 98 géneros y unas 2700 especies (Cabral y col., 2017). Las solanáceas son plantas herbáceas, subarbustos, arbustos, árboles o lianas. Algunos ejemplos de especies medicinales son: 1) *Solanum sisymbriifolium*, planta utilizada en medicina popular como diurético, digestivo o para tratar la gripe; se emplean para este fin raíces, flores, hojas y tallos tiernos (INCUPO, 1998). 2) *Nicotiana glauca* posee hojas que son usadas en medicina popular para aliviar cualquier tipo de hinchazón y forúnculos, también se las aplica machacadas para que las heridas infectadas cicatricen. Su decocción se usa en el lavado de granos y heridas (Jaraleño, 2001).

Apocynaceae es una familia de dicotiledóneas que incluye árboles, arbustos, hierbas o lianas. Muchas especies son grandes árboles que se encuentran en la selva tropical y la mayoría son de procedencia de los trópicos y los subtrópicos (Castañeda y col., 2017). La familia, en su sentido actual, está dividida en 366 géneros aceptados, que incluyen unas 4500 a 5500 especies aceptadas. La continua expansión de la familia ha sido acompañada por diversos cambios fitoquímicos que le han permitido desarrollar y explorar nuevos mecanismos defensivos (alcaloides, conductos laticíferos, olores, etc.) (Rzedowski, 2009). Algunos géneros como *Thevetia* y *Nerium* contienen glúcidos cardiotónicos, utilizados en el tratamiento de enfermedades cardíacas; otras especies como *Rauvolfia serpentina* producen los alcaloides reserpina y rescinamina con propiedades hipotensoras y sedantes (Suárez y col., 2015).

La Reserva de la Biósfera de la Sierra Gorda es uno de los grandes pulmones de México, ubicado en el centro del país. Una parte importante de esta reserva se

encuentra en Querétaro, siendo esta zona la más valiosa del estado en cuanto a ecosistemas se refiere. Las regiones predominantes en número de especies y diversidad corresponden a los municipios de la Sierra Gorda de Querétaro y sus colindancias. Un estudio realizado por el INEGI en 2019 menciona que los municipios con mayor biodiversidad florista del estado de Querétaro son Jalpan de Serra, Pinal de Amoles, Landa de Matamoros, Arroyo seco y Cadereyta de Montes, pues la superficie abarca el 48.7% del Estado de Querétaro, pero además, representa el 18.4% de bosques, el 15.4% de matorral, el 7.7% de selvas, el 6.9% de pastizales y el 2.9% restante de otros tipos de vegetación y cuerpos de agua distribuidos en la superficie de estos municipios (INEGI, 2019). Como se mencionó anteriormente, las principales familias con propiedades medicinales en el Estado de Querétaro presentan una amplia diversidad de especies, debido propiamente a las condiciones de clima, geografía y topología de esta zona del país.

Aunque no hay un reporte de los municipios con mayor número de especies medicinales en la entidad, se puede hipotetizar que si Jalpan de Serra, Pinal de Amoles, Landa de Matamoros, Arroyo seco y Cadereyta de Montes son los municipios que abarcan la mayor diversidad de especies, también deben ser los que contienen mayor cantidad de especies medicinales. Esta hipótesis fue corroborada por nuestro grupo de investigación al reportar que los tres principales municipios del Estado de Querétaro que abarcan la mayoría de las especies medicinales son: Landa de Matamoros con el 17 % (99 especies), Jalpan de Serra con el 14 % (73 especies) y Pinal de Amoles con el 9 % (54 especies). Por otro lado, como ya se mencionó, Nava y Zamora en 2001 también se enfocaron en 25 localidades de los municipios de Arroyo Seco, Cadereyta, Jalpan, Landa de Matamoros, Pinal de Amoles y San Joaquín del Estado de Querétaro, donde en la actualidad, habitantes de las comunidades rurales de dichos municipios siguen utilizando la medicina tradicional para tratar diversas enfermedades. De tal manera que, nuestros resultados de la búsqueda de los usos medicinales de las especies indican que los

principales usos medicinales incluyen tratamiento de: desórdenes gastrointestinales (14.67 %), dolor (10.94 %), enfermedades infecciosas (10.81 %), enfermedades cutáneas (10.81 %) y diabetes (10.3 %). Estos datos resultan particularmente importantes, ya que existen más de 20 usos medicinales, en donde se utilizan con fines terapéuticos las especies florísticas de la zona. Estos resultados contribuyen a nutrir la información etnomédica de estas especies, dando un valor agregado a la flora de la zona y preservando este importante acervo cultural para el Estado y para el País.

En este trabajo, se investigaron también los usos farmacológicos reportados mediante un método científico, que validara los usos medicinales para los cuales las especies son utilizadas. En esta investigación encontramos que hay más de 24 actividades farmacológicas reportadas para diferentes especies de esta zona, siendo los efectos más estudiados: el antimicrobiano (21.5 %), el anticanceroso (13.4 %), el antioxidante (12.1 %), el antiinflamatorio (9.1 %) y el analgésico (6.0 %). La búsqueda de nuevas alternativas para tratar enfermedades a nivel mundial que corresponden a enfermedades no trasmisibles como el cáncer o la lucha contra bacterias resistentes a antibióticos explica por qué estos son los usos farmacológicos más estudiados. Los metabolitos secundarios obtenidos de fuentes naturales siguen proporcionando moléculas prototipo para el desarrollo de moléculas bioactivas con mayor selectividad y eficacia que presenten menos efectos adversos para el tratamiento de diversas enfermedades. En este contexto, los resultados obtenidos en la presente tesis constituyen la base para fomentar la búsqueda de nuevos metabolitos y para caracterizar a las especies vegetales desde el punto de vista fitoquímico, ya que las especies validadas científicamente hasta ahora son solo el 6.4 %.

9.2. Elaboración de la base de datos digital.

Para la realización de la base de datos digital, se utilizó la aplicación *online Google Sites* ofrecida por la empresa estadounidense *Google* como parte de la suite de productividad de *G Suite*. Esta aplicación permite crear un sitio *web* o una *Intranet* de forma muy sencilla. De tal manera que, aprovechando las herramientas tecnológicas gratuitas se logró finiquitar el principal objetivo que era crear esta base de datos para divulgar el conocimiento científico compilado en el presente estudio.

Actualmente, la página está completa, es amigable y forma parte del reservorio universitario. Este documento está publicado en la página del Posgrado en Ciencias Químico Biológicas en el apartado “Conócenos más” con el nombre de “Flora de Querétaro” (Enlace de acceso: <https://sites.google.com/view/b-xolalpa-pmedicinales-qro/portada>).

Esta página Web es la primera obra realizada en el Estado de Querétaro que contiene la compilación completa de usos medicinales y efectos farmacológicos validados de las especies vegetales de la región del Bajío. Con respecto a la flora de esta área, el Instituto de Ecología A.C., en el que participan investigadores de esta institución, así como de otros organismos nacionales y algunos extranjeros, publicó el libro “Flora del Bajío y Regiones Adyacentes”, el cual se actualiza anualmente, donde viene la Flora de esta región en forma de fascículos sin secuencia preestablecida; cada fascículo corresponde en principio a una familia (Croat y Carsen, 2003)).

Este documento constituye el único medio de divulgación de esta información tan importante. Por esta razón, se tiene planeado complementar y actualizar anualmente la información de esta página para que sea reconocida a nivel Estatal como parte de su acervo cultural.

9.3. Selección de especies para su estudio farmacológico.

Cuando se tiene una gran cantidad de información, se deben utilizar filtros para disminuir y agrupar las especies para reducir los grupos de estudio. En este proyecto se consideraron los siguientes criterios de selección de las especies: 1) especies con uso medicinal para tratar la hipertensión arterial y/o el cáncer, 2) ausencia de estudios científicos que validaran dichos usos farmacológicos y 3) criterio quimiotaxonómico para escoger aquellas especies más atractivas en cuanto a metabolitos secundarios reportados. Debido a la época del año, de la lista mostrada en la Tabla 1, se pudieron coleccionar 3 especies: *Malvastrum coromandelianum*, *Malvastrum bicuspidatum* y *Piper commutatum*.

Malvastrum coromandelianum y *Malvastrum bicuspidatum* son especies que pertenecen a la familia Malvaceae, comúnmente conocida como falsa malva. La información etnobotánica reveló que las especies de este género son utilizadas para tratar diversos trastornos, entre los que destacan: uso de las hojas para controlar el sangrado de heridas y calmar la disentería, trastornos gastrointestinales, fiebre, enteritis, hepatitis, tos, dolor de garganta y artritis; la infusión de hojas en el tratamiento de la diabetes (Sanghai y col., 2013). El cribado farmacológico reveló que estas especies poseen actividades antinoceptivas, antiinflamatorias, analgésicas y antibacterianas. Cabe resaltar que no existe ningún reporte sobre efectos farmacológicos ni sobre elucidación estructural de compuestos de la especie *M. bicuspidatum*. En este proyecto, se evaluó por primera vez desde un punto de vista farmacológico y químico esta especie, demostrando sus efectos vasodilatador y antiproliferativo e identificando sus compuestos presentes en el extracto de diclorometano.

Piper commutatum es una especie perteneciente a la familia Piperaceae. Los aceites esenciales, obtenidos de diferentes plantas pertenecientes a este género, inhiben el crecimiento de un amplio grupo de microorganismos y se utilizan para el

tratamiento del cáncer. Además, se emplean como estimulantes de la digestión, expectorantes y presentan propiedades antisépticas, antiinflamatorias, diuréticas y vasorrelajantes (Soto y col., 2015). Específicamente, *P. commutatum* se usa tradicionalmente para tratar la fiebre y el dolor de garganta. En una revisión realizada por Durant-Archibold y colaboradores, se reportó que *P. commutatum* se utiliza como diurético, antipirético, para tratar la gota, la angina de pecho, la erisipela, enfermedades venéreas, cólicos y dolor de cabeza, así como estimulante del apetito, anestésico local y en cataplasma para heridas (Durant-Archibold y col., 2010). Investigadores de la UNAM extrajeron información de libros de curanderos de la tribu chinanteca en México, que describe que la decocción de las hojas de *P. auritum* (sinónimo *P. commutatum*) se utiliza para facilitar el parto y como emenagogo, mientras que la tribu maya usaba la planta tradicionalmente para curar heridas (UNAM, 2018). Debido a la distribución de esta especie, hay reportes de sus usos en Panamá, Colombia y Guatemala, donde el jugo de las hojas trituradas o la decocción de las raíces se beben o se usan en baños para las mordeduras de serpientes o se frotran en el cuerpo como repelente de serpientes (Sánchez y col., 2009). Dentro de las actividades farmacológicas reportadas para este género se encuentran: la antioxidante, la antimicrobiana, la antiparasitaria contra *Leishmania spp*, *Tripanosoma cruzi*, *Plasmodium falciparum*, *Toxoplasma gondii* y *Giardia lamblia*, la antiproliferativa en líneas celulares MCF-7 de cáncer de mama, la antiinflamatoria, la neurofarmacológica y se ha utilizado también en pacientes con trastornos de ansiedad generalizada (Salehi y col., 2019).

Las especies vegetales *M. coromandelianum*, *M. bicuspidatum* y *P. commutatum* se utilizan en la Medicina Tradicional Mexicana para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares y el cáncer, usos medicinales respaldados por efectos farmacológicos reportados en la bibliografía. Por estas razones, estas plantas fueron seleccionadas para evaluar sus efectos vasodilatador y citotóxico.

9.4. Preparación de los extractos empleados para la evaluación farmacológica.

Para la obtención de los extractos de diclorometano y metanol de cada una de las plantas seleccionadas, se utilizó el método de Soxhlet, el cual es considerado uno de los principales métodos utilizados para la extracción sólido-líquido de principios activos de plantas en química de productos naturales (Dewick, 2009). Se eligió este método porque la extracción se realiza en un menor tiempo, el disolvente se puede reutilizar, se pueden continuar extrayendo compuestos sin saturarse mediante la evaporación y la condensación, no se requiere filtración posterior, su capacidad de recuperación es elevada y permite la obtención de grupo de compuestos acorde a la polaridad del solvente utilizado (Dávila, 2022).

El procedimiento es simple, el material vegetal sólido que se va a utilizar para la extracción se coloca en un cartucho confeccionado con papel filtro, el cual se introduce en la columna de extracción, se llena el matraz con disolvente hasta la mitad aproximadamente y se calienta a una temperatura no mayor al punto de ebullición del solvente (Dávila, 2022). Al calentarse el disolvente, se evapora y asciende por la columna de extracción hasta la zona del condensador, donde se enfría condensándose, cayendo de regreso gota a gota sobre el cartucho y extrayendo así los componentes solubles de acuerdo con la polaridad del disolvente, a través del sifón. Cuando se alcanza un nivel de disolvente suficiente, cae la parte soluble de componentes que se pretende separar por gravedad a la cámara de disolvente (Dávila, 2022). Cuando se vuelve a calentar el disolvente se evapora puro y vuelve a arrastrar al caer más compuestos. El proceso se repite automáticamente hasta que se considera que la extracción se ha completado. En este caso, se repitió el proceso de extracción 10 veces, usando un sistema múltiple continuo para hacer más eficiente la extracción. Con el equipo Soxhlet se realizan múltiples extracciones de manera automática (en continuo), usando el mismo disolvente, el cual se evapora y condensa, recirculando en el equipo (reciclándose).

Por este método, se obtuvieron los 6 extractos provenientes de las 3 plantas seleccionadas. El rendimiento elevado de los extractos permitió realizar su evaluación farmacológica. Si bien este método no se recomienda para preservar estructuras termolábiles, es apto para extraer una cantidad amplia de compuestos y preservar su efecto farmacológico. El mayor porcentaje de rendimiento se obtuvo con el extracto metanólico de *Piper commutatum*, lo cual está de acuerdo con la bibliografía, que indica que las especies del género *Piper*, contienen una mayor cantidad de compuestos polares, que pueden ser solubilizados con el metanol al ser un disolvente de mayor polaridad. De manera similar, el elevado rendimiento de los extractos de las especies del género *Malvastrum* se debe a que la proporción de sus metabolitos secundarios son mayoritariamente de alta polaridad.

9.5. Determinación del efecto vasodilatador de los extractos obtenidos por el ensayo de aorta aislada de rata.

El efecto vasodilatador de los extractos vegetales se evaluó, utilizando el ensayo de aorta aislada de rata. Los estudios en órgano aislado son una herramienta útil para evaluar la actividad farmacológica de una molécula sobre los receptores, canales iónicos y enzimas de un tejido (Correa, 2011). La aorta torácica de rata es un órgano encargado de transportar y distribuir la sangre hacia los diferentes tejidos del cuerpo; es muy flexible y extensible. Estas características permiten utilizarla para evaluar el efecto vasodilatador de extractos o sustancias de prueba de manera confiable (Gutierrez y Palacios, 2007). Por esta razón, en este trabajo experimental se utilizó esta metodología.

Nuestros resultados indicaron que los extractos metanólico y de diclorometano de *Malvastrum coromandelianum* y *Malvastrum bicuspidatum* relajan la aorta de rata de una manera dependiente de la concentración. Los 4 extractos indujeron un efecto vasodilatador estadísticamente significativo con respecto al control a partir de la concentración de 31.62 µg/mL. El extracto de diclorometano de *M. bicuspidatum* fue

el más potente con una CE_{50} de 17.36. Es importante resaltar que, aunque hay reportes de diversos efectos farmacológicos reportados para *M. coromandelianum*, en este proyecto se reporta por primera vez su efecto vasodilatador. Asimismo, en este trabajo se reporta por primera vez que *M. bicuspidatum* produce un efecto vasodilatador. Debido a que no hay ningún reporte del efecto vasodilatador de especies del género *Malvastrum*, se buscó alguna referencia de la familia Malvaceae a la que corresponden estas especies y se encontró un reporte realizado por Zheoat y colaboradores en el 2019, donde indican que las decocciones de *Hibiscus sabdariffa* (especie perteneciente a la familia de las malváceas) se ha utilizado tradicionalmente en África Occidental y México como remedio antihipertensivo (Zheoat y col., 2019). Aunque no reportan la CE_{50} , se menciona que en un rango de 125 a 500 mg/kg es un vasodilatador efectivo, que reduce tanto la presión sistólica como la diastólica y el ritmo cardíaco. El estudio de Zheoat y colaboradores apoya, de manera indirecta, los resultados obtenidos en este proyecto para *M. coromandelianum* y *M. bicuspidatum*, los cuales son prometedores, en particular los extractos metanólicos, que presentaron un mayor efecto vasodilatador.

En un estudio reportado por Da-Costa-Rocha y colaboradores en 2014, se señala que varios fitoconstituyentes bioactivos como el campesterol, diosgenina, dotriacontano, ácido octadecanoico, β -feniletilamina, escualeno, estigmasterol y β -sitosterol, proporcionan a las plantas del género *Malvastrum* propiedades farmacológicas, las cuales han sido demostradas, entre las que destacan sus efectos antibacterianos, antifúngicos, hipoglucemiantes, hipolipemiantes, antihelmínticos y antiinflamatorios, principalmente (Da-Costa-Rocha y col., 2014). Al tratarse de compuestos polares, se puede inferir que el extracto metanólico de estas especies puede presentar este tipo de compuestos y, por tanto, sean los responsables de tener una mejor respuesta sobre los anillos de aorta aislada de rata.

Por otro lado, los extractos de *Piper commutatum* también producen un efecto vasodilatador, pero a concentraciones más altas, observándose un incremento significativo en el efecto vasodilatador a partir de 316.23 µg/mL. Las especies de este género, en la medicina tradicional, se han utilizado para tratar varias enfermedades, como problemas urológicos, enfermedades de la piel, padecimientos del hígado y del estómago, para la cicatrización de heridas y como agentes antipiréticos y antiinflamatorios (Hosana y col., 2000). Solo se tiene un reporte de uso medicinal para tratar problemas cardiacos, el cual se encuentra publicado por Durant-Archibold y colaboradores en 1997. Hasta el momento, no hay reportes que indiquen que esta especie produce un efecto vasodilatador, por tanto, estos resultados son el primer reporte del efecto vasodilatador para los extractos de diclorometano y metanol de *P. commutatum*. Debido a que presenta un efecto vasodilatador es importante fraccionar los extractos para buscar la fracción que genere un mayor efecto vasodilatador y determinar si existe sinergismo, antagonismo o aislar los metabolitos responsables de generar el efecto vasodilatador.

9.6. Curva de proliferación en células de cáncer de mama MDA-MB-231 y células de cáncer de colon HT-29.

Los extractos de diclorometano y metanólico de la planta *Piper commutatum* disminuyeron la viabilidad de las células de cáncer de mama MDA-MB-231, de una manera dependiente de la concentración, con CI_{50} de 34.74 y 34.02 µg/mL, respectivamente. Estos extractos fueron los que presentaron la mayor potencia antiproliferativa. Hasta la fecha, no se ha reportado ningún efecto de esta especie sobre la proliferación de células cancerígenas, sin embargo, existen reportes de otras especies como *Piper nigrum*, una planta usada en la medicina tradicional en la India para aliviar el dolor, la fiebre y el cáncer (Ahmad y col., 2012). Se demostró que el extracto de la *Piper nigrum* es capaz de inhibir el crecimiento de las células MCF-7, correspondientes al cáncer mamario, a través de la regulación de p53, E-

caderina, las metaloproteinasas MM-9 y MMP-2, y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (Deng y col., 2016). Asimismo, se han logrado aislar componentes de la *Piper nigrum*, como la piperina, la cual es un alcaloide con actividad anticancerígena, que inhibe la telomerasa, las metaloproteasas y las topoisomerasas (Goel y col., 2018) y la piperonalina, que induce la apoptosis en células PC3 de cáncer de próstata (Lee y col., 2013). De manera adicional, se han aislado otros compuestos de las plantas del género *Piper* que presentan propiedades anticancerígenas: la pellitorina tiene efecto citotóxico en células de leucemia promielocítica humana (HL60), la piperidina inhibe el crecimiento de células del epitelio humano de laringe (HEp2) (Reshmi y col., 2010) y la dehidropiperlonanina, al igual que la piperloeína B, tienen un efecto inhibitorio sobre las células HepG2 de carcinoma hepatocelular (Tedasen y col., 2020).

Sriiriyajan y colaboradores en 2014 demostraron que el extracto libre de piperina de *Piper nigrum*, probado en células MCF-7, posee una CI_{50} de 7.45 $\mu\text{g/mL}$. Con respecto a nuestro estudio, las CI_{50} de los extractos de diclorometano y metanólico de la *Piper commutatum* fueron de 34.74 y 34.02 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, solo aproximadamente 5 veces menos potentes. Estos valores de CI_{50} cambian de especie a especie, además las células MCF7 corresponden a un tipo de cáncer luminal y poseen receptores hormonales en su membrana (estrógeno y progesterona), por lo que se le considera un modelo celular de bajo potencial maligno, mientras que las células MDA-MB-231 pertenecen al tipo basal y no expresan receptores hormonales en su superficie celular, por lo que se les considera altamente invasivas (López-Naranjo y col., 2018). Considerando estas características de las líneas celulares, es posible que el efecto antiproliferativo de nuestros extractos de *Piper commutatum* en células MDA-MB-231 sea mayor que en células MCF-7.

Por otra parte, los extractos de diclorometano y metanólico de *Piper commutatum* presentaron un efecto antiproliferativo en los ensayos realizados con células de

cáncer de colon HT29 con CI_{50} de 56.68 y 20.70 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. En estudios previos, se demostró que la hinokinina, aislada de las semillas de la *Piper cubeba*, disminuye la viabilidad de distintas líneas celulares cancerígenas como la A549 (adenocarcinoma de pulmón), K562 (leucemia mieloide crónica), SiHa (carcinoma cervical), KB (carcinoma nasofaríngeo), HCT116 y HT29 (cáncer de colon) (Rajalekshmi y col., 2016). Además, Maungchanburi y colaboradores (2022) obtuvieron 15 fracciones del extracto de diclorometano de la *Piper cubeba* y observaron que una de ellas presentó un efecto antiproliferativo en células HT29 con una CI_{50} de 10.82 $\mu\text{g/mL}$. Asimismo, estos investigadores reportaron que dicha fracción contenía niveles altos de fenoles totales, así como de flavonoides y taninos. La realización de un estudio fitoquímico biodirigido del extracto de diclorometano de *Piper commutatum* permitiría el aislamiento de varios compuestos importantes, responsables del efecto antiproliferativo de las células cancerígenas HT29.

Los extractos de diclorometano y metanólico de *Malvastrum coromandelianum* también presentaron un efecto antiproliferativo en las células de cáncer de mama MDA-MB-231, ya que a partir de la concentración de 10 $\mu\text{g/mL}$ para el extracto de diclorometano y de 25 $\mu\text{g/mL}$ para el metanólico disminuyó la viabilidad celular. En el 2020, Yadav y Mohite mostraron que un extracto de acetato de etilo de *M. coromandelianum* disminuyó la viabilidad de células MCF7, evaluada por el método de azul tripano, en un 21% a una concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$. Si bien se trata de distintos tipos de extractos y diferentes líneas celulares, la viabilidad celular con nuestro extracto de diclorometano a la misma concentración (100 $\mu\text{g/mL}$) fue de 53.92% y con nuestro extracto metanólico fue de 54.05% en una línea más agresiva de cáncer de mama que es la MDA-MB-231. Estos resultados indican que los compuestos extraídos con ambos solventes presentan un mayor efecto antiproliferativo en una línea de cáncer mamario más invasivo.

Por otra parte, en este trabajo se muestra, por primera vez, que extractos de *M. coromandelianum* presentan un efecto antiproliferativo importante en células de

cáncer de colon HT29. El hecho que el efecto antiproliferativo de los extractos de diclorometano y de metanol en las células HT-29 sean mucho menores con respecto al observado en las células MDA-MB-231, puede deberse a los receptores que se expresan en la superficie celular. Mientras que las células MDA-MB-231 no expresan receptores hormonales, las células HT29 expresan el receptor de uroquinasa (uPAR), el cual desencadena la conversión de plasminógeno a plasmina y la subsiguiente activación de metaloproteinasas, lo cual estimula la migración celular. También, dicho receptor interactúa con receptores de factor de crecimiento en células cancerosas, por lo que adicionalmente juega un papel importante en la tumorigénesis (Noh y col., 2013). Por esta razón, existe la posibilidad de que alguno de los compuestos presentes en los extractos de diclorometano y de metanol de *M. coromandelianum* sea capaz de antagonizar el receptor de uroquinasa en las células HT29 y así provocar la muerte celular.

En esta tesis, se muestra por primera vez que los extractos de diclorometano y metanólico de *Malvastrum bicuspidatum* presentan un efecto antiproliferativo, dependiente de la concentración, tanto en células MDA-MB-231 como en células HT29. El hecho que el efecto antiproliferativo de los extractos evaluados en células MDA-MB-231 sean menores que en células HT29 podría ser por la ausencia de receptores expresados en la membrana de las células MDA-MB-231, ya que no se tiene una diana molecular (López-Naranjo y col., 2018). La realización de un estudio fitoquímico biodirigido para determinar los compuestos responsables del efecto antiproliferativo de esta especie vegetal y la caracterización de sus mecanismos de acción, mostrará las vías de señalización involucradas que conduzca a la muerte de estas células cancerígenas.

9.7. Análisis químico de los extractos de diclorometano CG-EM/QTOF.

Una de las técnicas más utilizadas para conocer los metabolitos presentes en una mezcla compleja, como lo es un extracto, es la cromatografía de gases (CG)

acoplada a espectrometría de masas (EM) o CG-EM. Esta metodología une a dos poderosas técnicas, la de separación (CG) y la espectroscópica (EM), que se usan no sólo para detectar y cuantificar los analitos de un extracto multicomponente sino para identificarlos (Stashenko y Martínez, 2011). La técnica CG-EM, a pesar de sus grandes avances y desarrollos, multifuncionalidad, sensibilidad y alta reproducibilidad, así como la facilidad de manejo y robustez, posee una limitación inherente: el número de sustancias que puede analizar es limitado, porque no todos los compuestos pueden ingresar al sistema CG-EM, sin que se empeore su funcionamiento o la sensibilidad de detección (Urrutia, 2018). Esta limitación está relacionada con la volatilidad, la termoestabilidad, la polaridad y el peso molecular alto de los analitos de interés. En otras palabras, para su análisis por CG-EM, los analitos deben ser estables hasta temperaturas de 300-350 °C, volátiles o volatilizables y deben existir en la fase gaseosa, sin experimentar ninguna modificación química y, por lo general, su peso molecular no debe superar los 500-550 Da (Urrutia, 2018). Por esta razón, se evaluaron por esta técnica únicamente los extractos de diclorometano y los nuestros resultados mostraron que los extractos contienen principalmente moléculas no polares y medianamente polares con masas moleculares de hasta 400-450 Da. Sin embargo, también pueden contener otros metabolitos que no cumplen con estas condiciones, pero que están presentes en el extracto y pueden ser identificados por otras técnicas.

Los resultados obtenidos del análisis químico realizado en este trabajo indicaron que el extracto de *Malvastrum coromandelianum* contiene monoterpenos, diterpenos, sesquiterpenos, ácidos carboxílicos, ácidos grasos, ésteres y alcanos. Los principales compuestos son: (2-metilenbutil)-cicloalcano, pinano, escualeno, D-limoneno, ácido nonanoico y heicosano. Para el caso de *Malvastrum bicuspidatum*, se identificó un menor número de componentes que incluyen monoterpenos, alcanos y terpenos. Los metabolitos principales son: Pinano, octacosano, triacontano y escualeno. Al ser especies del mismo género, se esperaría que su

composición fuera similar. En este caso, se encontró que ambas especies contienen compuestos en común como el escualeno y el pinano, sin embargo, el extracto de diclorometano de *M. bicuspidatum* tuvo un efecto vasodilatador más potente que el del extracto de *M. coromandelianum* y ambos presentaron un efecto antiproliferativo similar sobre las dos líneas celulares evaluadas. Estas diferencias en las respuestas farmacológicas podrían ser explicadas por la presencia de diferentes compuestos en las diferentes especies vegetales, los cuales difieren en su polaridad y, por lo tanto, son extraídos de manera diferencial por diferentes solventes orgánicos.

Dhirendra y colaboradores (2013) realizaron un tamizaje fitoquímico, donde se extrajeron sucesivamente 250 g de hoja pulverizada con éter de petróleo grado analítico (60-80°), cloroformo, acetona y metanol, utilizando un extractor Soxhlet. Los resultados de las pruebas químicas indicaron la presencia de varios metabolitos secundarios como alcaloides, aceites fijos, saponinas, compuestos fenólicos, taninos, carbohidratos y proteínas (Dhirendra y col., 2013). Mientras que estos investigadores obtuvieron un 4.01 % de rendimiento de la extracción de su extracto metanólico, nuestro equipo de trabajo recuperó el 14.04 %. Esta diferencia en los rendimientos se debe a que Dhirendra y col. realizaron solo una extracción y no una extracción continua como la que realizamos en el presente estudio.

Entre los componentes identificados en este trabajo en *Piper commutatum* se encuentran terpenos, monoterpenos bicíclicos, sesquiterpenos, alcanos, ésteres, ácidos grasos, alcoholes, flavonas y fitoesteroles; sus componentes principales son: Safrol, *o*-cimeno y β -cimeno, y pinano. En esta especie se identificaron un mayor número de compuestos por la técnica de GC-MS-TOF. Su componente principal es el Safrol, un terpeno que ha sido recuperado de diversas especies de este género. En un estudio realizado por Sánchez y colaboradores (2009), evaluaron el aceite esencial de esta misma especie, reportando 32 componentes, entre los que se encuentran, hidrocarburos monoterpénicos (20.17%), hidrocarburos sesquiterpénicos (3.54 %) y compuestos oxigenados (75.73%) y, de manera similar

a lo reportado en esta tesis, encontraron que el componente mayoritario fue el monoterpeno oxigenado safrol (74.29%). En un artículo de revisión, Silva y colaboradores (2017) describen tres aceites esenciales destilados de hojas, uno de Panamá, caracterizado por safrol (70 %) y dos de Cuba, caracterizados uno por safrol (64.5 %) y canfeno (5.5 %) y el segundo por safrol (71.8 %) (Silva y col., 2017). Sin embargo, también hay reportes de otros compuestos que son relevantes desde el punto de vista fitoquímico. Por ejemplo, Hosana y colaboradores (2000) reportaron que las especies *Piper hispidum* y *Piper tuberculatum* acumulan amidas que contienen restos de isobutilo, pirrolidina, dihidropiridona y piperidina, siendo componentes principales los metabolitos nitrogenados. En otro estudio, Soto (2015) reportó que las hojas de *Piper peltatum* y *Piper aduncum*, procedentes de la región Amazonas, contienen una alta diversidad de metabolitos en ambas especies, como alcaloides, triterpenos y esteroides, flavonoides, fenoles y taninos, azúcares reductores, quinonas, compuestos grasos, cumarinas y resinas; la especie de *Piper aduncum*, fue la que presentó mayor concentración de flavonoides como quercetina (Soto, 2015). La identificación de compuestos realizada en la presente tesis coincide con los reportados en la literatura para otras especies del mismo género, como se mencionó anteriormente.

Es importante mencionar, que estos resultados son el primer acercamiento a la determinación de la composición química los extractos orgánicos de las tres especies vegetales seleccionadas. Es importante continuar con el estudio químico de estas plantas, implementando otras técnicas que permitan evaluar estructuras de mayor peso molecular, ya que es altamente probable encontrar moléculas bioactivas con estructuras químicas novedosas.

10. CONCLUSIONES

- Las familias que cuentan con mayor número de especies con potencial de uso medicinal son: Fabaceae (46 especies), Compositae (Asteraceae, 31 especies), Verbenaceae (27 especies), Solanaceae (17 especies) y Apocynaceae (12 especies).
- Los principales usos medicinales de estas especies incluyen tratamiento de: desórdenes gastrointestinales (14.67 %), dolor (10.94 %), enfermedades infecciosas (10.81 %), enfermedades cutáneas (10.81 %) y diabetes (10.3 %).
- De las 395 especies vegetales queretanas con potencial medicinal, 225 (57 %) han sido evaluadas por un método científico y 168 (42 %) carecen de estudios que comprueben sus efectos farmacológicos.
- Los principales efectos farmacológicos reportados y validados científicamente son: antimicrobiano (21.5 %), anticanceroso (13.4 %), antioxidante (12.1 %), antiinflamatorio (9.1 %) y analgésico (6.0 %).
- Se elaboró la base de datos digital, la primera realizada con fines de divulgación científica. Esta página web permitirá preservar la información importante generada en este estudio y forma parte del acervo cultural del Estado y del País.
- Se determinó por primera vez que las tres especies vegetales seleccionadas *M. coromandelianum*, *M. bicuspidatum*, *P. commutatum* relajan la musculatura lisa arterial de rata. El extracto metanólico de *M. bicuspidatum* presentó la mayor potencia vasodilatadora.
- Este es el primer reporte que indica que las tres especies vegetales seleccionadas *M. coromandelianum*, *M. bicuspidatum*, *P. commutatum* presentan un efecto antiproliferativo en células de cáncer de mama MDA-MB-231. Los extractos orgánicos de *P. commutatum* presentaron el mayor efecto antiproliferativo.
- Se determinó por primera vez que las tres especies vegetales seleccionadas *M. coromandelianum*, *M. bicuspidatum*, *P. commutatum* disminuyen la viabilidad de

células de cáncer de colon HT-29. El extracto metanólico de *Piper commutatum* y el extracto de diclorometano de *Malvastrum coromandelianum* presentaron efecto antiproliferativo más potente.

- Los metabolitos reportados para los extractos de diclorometano, obtenidos por CG-EM/QTOF, nos muestran una variación de compuestos entre especies de diferente o, incluso del mismo género, lo cual sugiere una variabilidad en la presencia de rutas biosintéticas en las diferentes plantas.
- Los resultados reportados en este trabajo son prometedores, ya que una vez identificados las especies vegetales más potentes y el solvente orgánico que extrae la mayor cantidad de compuestos bioactivos, se puede proceder a realizar un estudio fitoquímico biodirigido, a fin de obtener los compuestos responsables de los efectos vasodilatador y citotóxico producido por estas plantas.

11. REFERENCIAS

- **Abdelhafez** H., Othman E.M., Fahim J.R., Desoukey S.Y., Pimentel-Elardo S.M., Nodwell J.R., Schirmeister T., Tawfike A., Abdelmohsen U.R. (2020). Metabolomics analysis and biological investigation of three Malvaceae plants. *Phytochem Anal.* Mar;31(2):204-214. doi: 10.1002/pca.2883. Epub 2019 Aug 7. PMID: 31390115.
- **Ablon** G. (2021). Nutraceuticals. *Dermatol Clin.* doi: 10.1016/j.det.2021.03.006.
- **ACS** (American Cancer Society). (2019). Chemotherapy side effects. Disponible en: <https://www.cancer.org/treatment/chemotherapy/chemotherapy-side-effects.html>. Fecha de consulta: 29 de septiembre de 2020.
- **ACS** (American Cancer Society). (2020). Treatments and side effects. Disponible en: <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types.html>. Fecha de consulta: 02 de julio de 2020.
- **Ahmad** N., Hina F., Bilal H.A., Shahid F., Mohammad A., Mubarak A.K. (2012). Biological role of *Piper nigrum* L. (Black pepper): A review, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, Volume 2, Issue 3, Supplement. Pages S1945-S1953, ISSN 2221-1691, [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60524-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60524-3).
- **AlAli** M., Alqubaisy M., Aljaafari N., AlAli O., Baqais L., Molouki A., Abushelaibi A., Lai KS., Lim E. (2021). Nutraceuticals: Transformation of Conventional Foods into Health Promoters/Disease Preventers and Safety Considerations. *Molecules*. doi: 10.3390/molecules26092540.
- **Bassols**, Á. (2006). Recursos naturales de México: una visión histórica. Primera ed. Ciudad de México: Trillas. pp 210-235.
- **Benediz**, J. y Gómez del Río, Á. (2016). Fármacos antineoplásicos. En: *Farmacología*. Primera ed. Bogotá, Colombia. pp. 60-75.

- **Bonnen, J., Baert, C., Burvenich, C., Blondeel, P., De Saeger, S., Spiegeleer, B. (2009).** LC-MS profiling of N-alkylamides in spilanthos acmella extract and the transmucosal behavior of its main bioactive spilanthol. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53,243-249.
- **Borbolla C. (2018).** La Hipertensión, un problema de Salud Mundial. Disponible en: <https://www.hospitalveugenia.com/comunicacion/consejos-de-salud/la-hipertension-un-problema-de-salud-mundial>. Fecha de consulta: 07 de febrero 2020.
- **Botero-S., Alaniz A., Álvarez S., Nieto-Samaniego A., López-Martínez M., Levresse G., Xu S., y Ortega-Obregón C. (2015).** Origen y desarrollo de la cuenca El Bajío en el sector central de la Faja Volcánica Transmexicana. *Revista mexicana de ciencias geológicas*, 32(1), 84-98.
- **Bover-Freire, R. y Moreno González, A. (2010).** Fármacos cardiovasculares. En: Noriega, ed. *Generalidades de la cardiología*. Cap 7: McGill, pp. 87-130.
- **Cabral, E., Medina, W. y Salas, R. (2017).** *Diversidad Vegetal: Caracterización de las principales familias vegetales en México*. Disponible en: [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgiclfndmkaj/https://exa.unne.edu.ar/biologia/diversidadv/documentos/ANGIOSPERMAS/Asterideas/Euasterideas%20Lamiideas/Lamiales/10-Verbenaceae.pdf](https://exa.unne.edu.ar/biologia/diversidadv/documentos/ANGIOSPERMAS/Asterideas/Euasterideas%20Lamiideas/Lamiales/10-Verbenaceae.pdf). Fecha de consulta: 01 Julio 2022.
- **Camm, A., Kirchhof, P., Lip, Y. y Schotten, A. (2018).** European Heart Rhythm Association (EHRA); European Association for CardioThoracic Surgery. Disponible en: <http://www.archivosdemedicina.com/medicina-de-familia/manejo-de-la-hipertension-arterial.pdf>. Fecha de consulta: 17 de enero de 2020.

- **Campos-Nonato**, I., Hernández-Barrera, L., Oviedo-Solís, C., Ramírez-Villalobos, D., Hernández-Prado, B., & Barquera, S. (2021). Epidemiología de la hipertensión arterial en adultos mexicanos: diagnóstico, control y tendencias. *Ensanut 2020. Salud Pública De México*, 63, 692-704. Disponible en: <https://doi.org/10.21149/12851>. Fecha de consulta: 3 de diciembre de 2021.
- **Carrillo-Esper**, M., Lara Caldera, B. y Ruiz Morales, J. (2010). Hierbas, medicina herbolaria y su impacto en la práctica clínica. *Rev Med Sur Mex.* 17:3-15, pp. 124-130.
- **Castañeda**, R., Gutierrez, H. y Sotelo, A. (2017). Leguminosas (Fabaceae) silvestres de uso medicinal del distrito de Lircay, provincia de Angaraes (Huancavelica, Perú). *Revista Latinoamericana y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 16(2), pp. 136-149.
- **Chen**, S., Yu, H., Luo, Y., Wu, Q., Li, C. y Steinmetz, A. (2016). Conservation and sustainable use of medicinal plants: problems, progress, and prospects. *Chin. Med.* 11:3-16.
- **Chitme**, H., Pradesh, U., Chandra, R. y Kaushik, S. (2004). Studies on anti-diarrheal activity of. Group. *Ann.Hum.Biol.* 7:70–75.
- **Cordero-Sánchez**, I., Díaz-Gutiérrez, M.J., García-Oribe, Y., Gardeazabal-yala, Y., Martínez, E., Martínez, M. (2017). Curso básico sobre hipertensión. Tema 3. Diuréticos. *Faracéuticas comunitarias*, 31, 23-29. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-curso-basico-sobre-hipertension-tema-X0213932417612237>. Fecha de consulta: 14 de diciembre de 2021.
- **Correa**, B. (2011). *Análisis histológico de aorta de rata winstar, hipertensa inducida con sal e hipertensa espontánea y estudio de corazones infartados tratados con LQM*, Cuautitlán: UNAM.

- **Croat, T., y Carlsen, M. (2003).** Flora del bajío y regiones adyacentes. primera ed. Santiago de Querétaro: Trillas. pp: 15-39.
- **Cruz-Aranda, E. (2018).** Fármacos diuréticos: alteraciones metabólicas y cardiovasculares en el adulto mayor. *Medicina interna de México*, 34(4), 566-573. <https://doi.org/10.24245/mim.v34i4.1684>.
- **Dávila, A. (2022).** *Extracción sólido-líquido (Soxhlet)*. Disponible en: <https://www.dequimica.info/extraccion-solido-liquido>. Fecha de consulta: 03 Julio 2022.
- **Delgado-Altamirano, R., López-Palma, I., Monzote, L., Delgado-Domínguez, J., Becker, I., Rivero-Cruz, F., Esturau-Escofet, N., Vázquez-Landaverde, P. A., Rojas-Molina, A. (2019).** Chemical constituents with Leishmanicidal Activity from a Pink-Yellow Cultivar of *Lantana camara* var. *aculeata* (L) Collected in Central Mexico. *International Journals of Molecular Sciences*, (20): 872.
- **Deng Y., Sriwiryajan S., Tedasen A., Hiransai P., Graidist P. (2016).** Anti-cancer effects of *Piper nigrum* via inducing multiple molecular signaling in vivo and in vitro. *J Ethnopharmacol.* 2016 Jul 21; 188:87-95. doi: 10.1016/j.jep.2016.04.047. Epub. PMID: 27155135.
- **Dewick, P. M. (2009).** *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach..* Third Edition ed. Nottingham: Wiley.
- **Do Vale T., Ceron S., Gonzaga A., Simplicio A., Padovan C. (2019).** Three Generations of β -blockers: History, Class Differences and Clinical Applicability. *Curr Hypertens Rev*;15(1):22-31. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30227820/>.
- **Earley, S. (2012).** TRPA1 channels in the vasculature. *Br. J. Pharmacol.* 167:13– 22.

- **Eggleton, G. (2022).** *Medicina tradicional: Escencial para la salud de los mexicanos.* Disponible en: <https://www.eluniversalqueretaro.mx/vida-q/19-10-2012/medicina-tradicional-esencial-para-la-salud-de-los-mexicanos>. Fecha de consulta: 18 Julio 2022.
- **ENSANUT** (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición). (2020). Análisis de los principales resultados. Salud Pública Mex. Disponible en: <http://ensanut.insp.mx>. Fecha de consulta: 05 de enero de 2020.
- **Ferriol M. (2015).** *Familia Compositae (Asteraceae): Características generales.*, Valencia.
- **Fierro, O. (2016).** Plantas medicinales evaluadas farmacológicamente en México. Disponible en: [http://ntrzacatecas.com/2016/planta-medicinales-evaluadas-farmacologicamente/Metropolitana \(UAM\)/Xochimilco.pdf](http://ntrzacatecas.com/2016/planta-medicinales-evaluadas-farmacologicamente/Metropolitana%20(UAM)/Xochimilco.pdf). Fecha de consulta: 20 de mayo de 2020.
- **Gago Banderas, F. (2018).** Farmacología y farmacoterapia contra el cáncer. Primera era ed. Alcalá: Trillas. pp: 25-47.
- **Gandía L., Borges R., Albulos A., García G. (2017).** Múltiple types of calcium channels are present in rat chromaffin cells. J Physiol. Disponible en: <http://esteve.org/wp-content/uploads/2018/01/136662.pdf>. Fecha de consulta: 27 de enero del 2020.
- **Garay R., Márquez-Contreras E., De la Figuera-Von, P., Wichmann M., Ranch-Nadal J., Llisterri-Caro L., Gil Guillen V., y Martin-De Pablos L. (2017).** Do Patients with High Vascular Risk Tak Antihypertensive Medication Correctly. Cumple-MEMS Study. Rev Esp Cardiol (Engl Ed) 65(6):544-50.
- **Goel, P., Alam, O., Naim, M. J., Nawaz, F., Iqbal, M., & Alam, M. I. (2018).** Recent advancement of piperidine moiety in treatment of cancer-Areview.European Journal of Medicinal Chemistry,157, 480–502

- **Grandi E., Ripplinger M. (2019).** Antiarrhythmic mechanisms of beta blocker therapy. *Pharmacol Res*; 146:104274. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31100336/>.
- **Greger, H. (2016).** Alkamides: structural relationships, distribution and biological activity. *Planta Med.*50:366–375.
- **Gutiérrez M. (2004).** Effects of *Heliopsis longipes* ethanolic extract on mouse spermatozoa in vitro. *Pharm. Biol.*54:266-271. Hamilton C. Medicinal plants. Disponible en: <https://www.cbd.int/doc/articles/2004/a-00116.pdf>. Fecha de consulta: 16 de marzo de 2020.
- **Gutierrez O., y Palacios M. (2007).** Implementación de la técnica en órgano aislado vascular como herramienta para la validación de plantas medicinales: Estudio del efecto vasodilatador de la *Salvia scutellarioides*. *Colombia Médica*, 38(1), pp. 28-33.
- **Henderson, J. (2013).** Gynecomastia with nitrosourea therapy against cancer cells. *Canc Treat Rep.* pp. 18:115-127.
- **Hosana D, Navickiene a., Massuo J. K., Vanderlan S., Bolzani M., Young A. J., Cavalheiro M., Furlan P. (2000).** Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*, *Phytochemistry*, Volume 55, Issue 6, Pages 621-626, ISSN 0031-9422, [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00226-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00226-0)
- **Ibarra Alvarado, C., Rojas, S., Mendoza, M., Bah, M., Gutiérrez, L., Hernández- Sandoval, A., y Martínez, M. (2010).** Vasoactive and antioxidant activities of plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of cardiovascular diseases. *Pharm. Biol.* pp 48:732–739.
- **INECOL (INSTITUTO DE ECOLOGÍA A.C.). (2021).** *Flora del Bajío y Regiones Adyacentes.* Disponible en: <https://libros.inecol.mx/index.php/FB/index>. Fecha de consulta: 12 Julio 2022.

- **INEGI**, Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2019). *Vegetación del Estado de Querétaro*. Disponible en: <https://paratodomexico.com/estados-de-mexico/estado-queretaro/vegetacion-queretaro.html>. Fecha de consulta: 10 Julio 2022.
- **INEGI**, Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2021). Características de las defunciones registradas en México durante 2020. Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2021/EstSocio de mo/DefuncionesRegistradas2020preliminar.pdf>. Fecha de consulta: 03 de diciembre de 2021.
- **Da-Costa-Rocha I.**, Bonnlaender D., Sievers H., Pischel I., Heinrich M. (2014). *Hibiscus sabdariffa* L. – A phytochemical and pharmacological review, *Food Chemistry*, Volume 165, 2014, Pages 424-443, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.002>.
- **Initia** (Instituto oncológico estatal de Madrid). (2017). Glosario de términos médicos. Disponible en: <https://initiaoncologia.com/glosario/antimetabolitos/>. Fecha de consulta: 15 de enero de 2021.
- **INSP** (Instituto Nacional de Salud Pública). (2018). Principales causas de muerte en la población mexicana. Disponible en: <https://www.insp.mx/avisos/5111-dia-muertos-mexicanos.html>. Fecha de consulta: 29 de septiembre de 2020.
- **Jiménez Sierra, C.**, Ramírez, J., Solís, A., Dávalos, A. y Ortega, C. (2014). México país megadiverso y la relevancia de las áreas naturales protegidas. *Investig. y Cienc. UAA*, pp. 1:16–22. Fecha de consulta: 05 de noviembre de 2021.
- **Jímenez Z.**, y Mora E. (2020). The developing relationship between receptor-operated and store-operated calcium channels in smooth muscle. *British Journal of pharmacology.*;135(1):1-13. Fecha de consulta: 03 de agosto de 2020.

- **Lázaro López, M. (2019).** Cancer etiology: Variation in cancer risk among tissues is poorly explained by the number of gene mutations. *Genes Chromosomes Cancer*, 57(6), pp. 281-293.
- **Lee W., Kim K.Y., Yu S.N., Kim S.H., Chun S.S., Ji J.H. (2013).** Piperonaline from *Piper longum* Linn. induces ROS-mediated apoptosis in human prostate cancer PC-3 cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013;430(1):406-12. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.11.030.
- **Levawdoski Antallares, R. (2006).** Actualidad de la medicina tradicional herbolaria. *Rev. Cuba. de Plant-Med*, pp. 32-47.
- **Linares E, Flores B, Bye R. (1990)** Principales plantas de uso medicinal. En: Atlas Nacional de México. México: Instituto de Geografía-Universidad Nacional Autónoma de México.
- **López López, R. (2019).** Etiología y riesgos de la hipertensión arterial. *OffFarm*, 20(10), pp. 88-95.
- **López-Naranjo F., Ávila-Álvarez E., Guadarrama-Flores B., Córdova-Moreno R., Hernández-Rodríguez N. (2018).** Estudio de las células cancerosas y su activación celular en el cáncer de mama. *Revista de Educación Bioquímica (REB)* 37(4):100-110
- **Mann E. (2019).** Choice of drug therapy in primary (essential) hypertension. Disponible en: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/high-blood-pressure/in-depth/ace-inhibitors/art-20047480>. Fecha de consulta: 30 de abril de 2021.
- **Martínez, J.M. (2018).** Las Verbenaceae: características, propiedades, morfología, y más. Disponible en: <https://hablemosdeflores.com/las-verbenaceae/>. Fecha de consulta: 30 Julio 2022.

- **Martínez, D., Norris, C., Caza, R. y Bragulat, E. (2016).** Pharmacological treatment of arterial hypertension: antihypertensive drugs. *Cardiology*, Elsevier, pp 37:5:215-221.
- **Martínez, M. (1991).** Las plantas medicinales de México. sexta edición. Ciudad de México: Ediciones Botas, pp. 116-187.
- **Maungchanburi S., Rattanaburee T., Sukpondma Y., Tedasen A., Tipmanee V., Graidist P. (2022).** Anticancer activity of *Piper cubeba* L. extract on triple negative breast cancer MDA-MB-231. *J Pharm Pharmacogn Res* 10(1): 39–51.
- **Molina-Torres, J., Salazar-Cabrera, C., Armenta-Salinas, C. y Ramírez-Chávez, E. (2004).** Fungistatic and bacteriostatic activities of alkaloids from *Heliopsis longipes* roots: Affinin and reduced amides. *J. Agric. Food Chem*, pp. 52:4700–4704.
- **Nava-Fernández, R. y Zamora-Ramos, D. (2001).** Notas sobre plantas medicinales del estado de Querétaro, México. *Rev Nac Ecol.*, 12(3), pp. 1-39.
- **NCI (National Cancer Institute). (2020).** Cancer properties. Disponible en: <https://www.cancer.gov/>. Fecha de consulta: 16 de mayo del 2021.
- **Newman, D., y Cragg, C. (2012).** Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod*, pp. 215-235.
- **Noh H., Hong S., Huang S. (2013).** Role of urokinase receptor in tumor progression and development. *Theranostics.*;3(7):487-95. doi: 10.7150/thno.4218. PMID: 23843896; PMCID: PMC3706692.
- **OMS (Organización Mundial de la Salud). (2020).** Informe sobre la situación mundial de las enfermedades no transmisibles en el 2019. Resumen de Orientación. Disponible en: https://www.who.int/nmh/publications/ncd_report_summary_es.pdf?ua=1. Fecha de consulta: 29 de septiembre de 2020.

- **OMS** (Organización Mundial de la Salud). (2021). Cancer. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Fecha de consulta: 2 de diciembre de 2021.
- **OMS** (Organización Mundial de la Salud). (2021). Hypertension. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>. Fecha de consulta 2 de diciembre de 2021.
- **OMS**. (2017). Información general sobre la hipertensión en el mundo. Disponible en: https://www.who.int/cardiovascular_diseases/publications/global_brief_hypertension/es. Fecha de consulta: 10 de febrero de 2020.
- **OPS** (Organización Panamericana de la Salud). (2021). Día Mundial contra el Cáncer 2021: Yo Soy y voy a. Disponible en: <https://www.paho.org/es/campanas/dia-mundial-contra-cancer-2021-yo-soy-voy>. Fecha de consulta: 11 de diciembre de 2021.
- **Prabu**, L., Suriyaprakash, K., Kumar, D., Sureshkumar, S., y Ragavendran,
- **Rajalekshmi**, D. S., Kabeer, F. A., Madhusoodhanan, A. R., Bahulayan, A. K., Prathapan, R., Prakasan, N., ... Nair, M. S. (2016). Anticancer activity studies of cubebin isolated from Piper cubeba and its synthetic derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 26(7), 1767–1771. doi: 10.1016/j.bmcl.
- **Ralhan**, R., Kaur, J., y Jatinder, A. (2018). Alkylating agents and cancer therapy. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 17(9), pp. 1061-1075.
- Reshmi S.K., Sathya E., Devi P.S. (2010). Isolation of piperidine from *Piper nigrum* and its antiproliferative activity. *Afr J Pharm Pharmacol*; 4: 562-573.
- **Rios-Castillo**, T., Quijano, L., y Reyes-Chilpa, R. (2012). Reflexiones sobre la herbolaria prehispánica desde el punto de vista químico. *Rev Latinoam quim med.*, 40(2), pp. 50-68.

- **Robertson D.**, y Biaggioni I. (2018). Fármacos antagonistas de los receptores adrenérgicos. Katzung B.G., & Trevor A.J.(Eds.), Farmacología básica y clínica, 13e. McGraw Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1832§ionid=126875447>.
- **Rohm, B.**, Holik, A., Kretschy, N. y Somoza, N. (2015) Nonivamide Enhances miRNA let-7d Expression and Decreases Adipogenesis PPAR γ Expression in 3T3-L1 Cells. J. Cell. Biochem, pp, 116:1153–1163.
- **Romelio M.**, Gaqsa, A. (2018). Tratamiento de los efectos secundarios de la quimioterapia. Disponible en: https://www.breastcancer.org/es/tratamiento/quimioterapia/efectos_secundarios. Fecha de consulta: 29 de septiembre de 2020.
- **Rzedowski, G.** (2009). Familia heliconiaceae. En: c. Ac, ed. *Flora del bajío y de regiones adyacentes*. Pátzcuaro: Murillo, pp. 36-88.
- **Salehi B.**, Zakaria Z.A., Gyawali R., Ibrahim S.A., Rajkovic J., Shinwari Z.K., Khan T., Sharifi-Rad J., Ozleyen A., Turkdonmez E., Valussi M., Tumer TB., Monzote F.L., Martorell M., Setzer W.N. (2019). Piper Species: A Comprehensive Review on Their Phytochemistry, Biological Activities and Applications. *Molecules*.;24(7):1364. doi: 10.3390/molecules24071364. PMID: 30959974; PMCID: PMC6479398.
- **Sánchez Y.**, Pino O., Correa T.M., Naranjo E., Iglesia A. (2009). Estudio químico y microbiológico del aceite esencial de *Piper auritum* kunth (caisimón de años). *Revista de Protección Vegetal*, 24(1), 39-46.
- **Sanghai D.B.**, Kumar S.V., Srinivasan K.K., Aswatharam H.N., Shreedhara C.S. (2013). Pharmacognostic and phytochemical investigation of the leaves of *Malvastrum coromandelianum* (L.) Garcke. *Anc Sci Life*. (1):39-44. doi: 10.4103/0257-7941.134596. PMID: 25161329; PMCID: PMC4140020.

- **Sierra**, I., Campos-Nonato, R., Barrera, P., y Pedroza-Tobías, R. (2013). Hipertensión arterial, prevalencia, diagnóstico, control y tendencias en adultos mexicanos. Disponible en: <http://saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/5110/10116>. Fecha de consulta: 20 de febrero de 2020.
- **Soto** Estrada, G., Moreno-Altamirano, L., y Palma-Díaz, D. (2016). Panorama epidemiológico de México, principales causas de morbilidad y mortalidad. *Rev FacMed*, 59(6), pp. 1-15.
- **Soto** M.R. (2015). Estudio fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedentes de la región Amazonas. In *Crescendo*, [S.l.], v. 6, n. 1, p. 33-43, jun. 2015. ISSN 2307-5260. doi: <https://doi.org/10.21895/increc.2015.v6n1.04>.
- **Sriwiryajan** S., Sukpondma Y., Srisawat T., Madla S., Graidist P. (2017). (-)-Kusunokinin and piperloguminine from *Piper nigrum*: An alternative option to treat breast cancer. *Biomed Pharmacother*; 92:732-743. doi: 10.1016/j.biopha.2017.05.130. PMID: 28586745.
- **Stashenko** E., y Martínez R. (2011). Preparación de la muestra: un paso crucial para el análisis por GC-MS.. *Scientia Chromatographica*, 3(1), pp. 25-49.
- **Suárez** M.E., Villaseñor J.L. y López-Mata L. (2015). La región del Bajío, México y la conservación de su diversidad florística. *Revista mexicana de biodiversidad*, 86(3), 799-808. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2015.06.001>
- **Tedasen** A., y Khoka A., Madla S., Sriwiryajan S., Graidist P. (2020). Anticancer effects of piperine-free *Piper nigrum* extract on cholangiocarcinoma cell lines. *Pharmacognosy Magazine*. 16. 28. [10.4103/pm.pm_288_19](https://doi.org/10.4103/pm.pm_288_19).

- **Tomasetti, C., Li, L., y Vogelstein, B. (2017).** Stem cell divisions somatic mutation T. *Nutraceuticals: A review.* Elixir Pharmacy, 46, 8372–8377. cancer etiology and cancer prevention. Fecha de consulta:18 de junio de 2021.
- **Urrutia López, I. (2018).** *Análisis químico por microextracción en fase sólida (HS-SPME-GC/MS-TOF) y por CG/EM de los componentes volátiles, así como del extracto de metanol de la planta medicinal Santolina chamaecyparissus L. (Asteraceae),* Zaragoza: UNAM.
- **WHO** (World Health Organization). (2021). Disponible en: <https://www.who.int/es/health-topics/cancer>. *Journal of Global Oncology*, 12(3), pp. 255- 266.
- **Yadav A.R. y Mohite S.K. (2020).** Anticancer Activity and In-Silico ADMET Analysis of *Malvastrum Coromandelianum*. IJPSR. <http://www.ijpsr.info/docs/IJPSR20-11-05-004.pdf>
- **Zheoat A.M., Gray A.I., Igoli J.O., Ferro V.A., Drummond R.M. (2016).** Hibiscus acid from *Hibiscus sabdariffa* (Malvaceae) has a vasorelaxant effect on the rat aorta. *Fitoterapia.* 5-13. doi: 10.1016/j.fitote.2019.01.012. PMID: 30690125.

