

Actividad antioxidante y antiproliferativa de seis plantas medicinales del noroeste de México

Antioxidant and antiproliferative activity of six medicinal plants from northwestern Mexico

Max Vidal Gutiérrez¹, Heriberto Torres Moreno², Carlos Arturo Velázquez Contreras¹, Luisa Alondra Rascón Valenzuela¹, Ramón Enrique Robles Zepeda^{1*}

¹ Universidad de Sonora, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Campus Hermosillo Sonora, México.

² Universidad de Sonora, División de Ciencias e Ingenierías, Departamento de Ciencias Químico Biológicas y Agropecuarias, Unidad Regional Norte, Caborca Sonora, México.

ABSTRACT

Reactive oxygen species, which induce oxidative stress in the body, are one of the risk factors for some cancer types. In Mexico, the types of cancer with the highest mortality are prostate, breast, cervical, lung, and liver. Natural products represent the oldest form of medicinal remedies; for cancer, this source is no exception. In this investigation, we studied the antiproliferative activities, by MTT, and the antioxidant activity, by ABTS and DPPH, in six northwestern Mexico medicinal plants. The *Jacquinia macrocarpa* ssp. *pungens* fruit shells showed the best antiproliferative activity with an IC₅₀ of 9.2 µg/mL in A549, followed by *Bursera microphylla* with IC₅₀ 13.8 µg/mL in HeLa. *Bursera laxiflora* showed the best antioxidant activity of the six plants against ABTS and DPPH radicals, and also presented antiproliferative activity in HeLa. The bark of *B. laxiflora* contains compounds with antioxidant activities, which are probably also the same that induce antiproliferative activity in cancer cell lines. On the other hand, *J. macrocarpa* showed no antioxidant activity. However, the three species of plants represent a potential source of molecules with antiproliferative activity.

Keywords: Antiproliferative activity, Antioxidant activity, *Bursera*, *Jacquinia*, *Acacia*.

RESUMEN

Las especies reactivas de oxígeno, que inducen estrés oxidativo en el organismo, son uno de los factores de riesgo para padecer de algún tipo de cáncer. En México los tipos de cáncer con mayor mortalidad son el de próstata, mama, cervicouterino, pulmón e hígado. Los productos naturales representan la forma más antigua de remedios medicinales, para el cáncer esta fuente no es una excepción. En esta investigación, se estudió la actividad antioxidante por ABTS y DPPH, y la actividad antiproliferativa de seis plantas medicinales del noroeste de México. Las cáscaras del fruto de *Jacquinia macrocarpa* ssp. *pungens* mostraron la mejor actividad antiproliferativa del estudio con una IC₅₀ de 9.2 µg/mL en A549, seguido por *Bursera microphylla* con IC₅₀ de 13.8 µg/mL en HeLa. *Bursera laxiflora* obtuvo la mejor actividad antioxidante de las seis plantas frente a los radicales ABTS y DPPH, así como también presentó actividad antiproliferativa

en HeLa. La corteza de *B. laxiflora* contiene compuestos con actividad antioxidante, que probablemente, también sean los mismos que inducen la actividad antiproliferativa en células cancerosas. Por otro lado, *J. macrocarpa* y *B. microphylla* no presentan actividad antioxidante, sin embargo, las tres especies vegetales representan una fuente potencial de moléculas con actividad antiproliferativa.

Palabras clave: Actividad antioxidante, Actividad antiproliferativa, *Bursera*, *Jacquinia*, *Acacia*.

INTRODUCCIÓN

El estrés oxidativo es uno de los factores de riesgo para padecer de cáncer, y sucede cuando los radicales libres en el organismo se encuentran en desequilibrio. Existen diferentes tipos de radicales libres, sin embargo, todos son capaces de dañar desde proteínas, hasta el propio ADN, pudiendo generar mutaciones que den origen a un cáncer (Moloney y Cotter, 2018). Según las estadísticas, en el año 2018, a nivel mundial se registraron 9.2 millones de defunciones a causa del cáncer. En México las cifras también son grandes, en 2015 se registraron 85 201 muertes a causa de tumores malignos, donde se destacan el cáncer de próstata, mama, cervicouterino, pulmón e hígado como los principales responsables de dichos fallecimientos (Aldaco-Sarvide *et al.*, 2019; Bray *et al.*, 2018). El interés por encontrar medicamentos más eficientes contra el cáncer, se ha enfocado en el estudio de plantas que puedan contener moléculas o grupos de moléculas con potencial anticancerígeno. Estudios realizados sobre productos derivados de plantas del género *Acacia*, *Bursera* y *Jacquinia*, endémicas en México, indican que poseen actividad biológica contra diversas líneas celulares (LC) cancerosas. Sin embargo, también existen algunos estudios donde se reporta actividad antioxidante en estas especies (Afsar *et al.*, 2018; Fon-Fay *et al.*, 2019; Gliarelli *et al.*, 2018; Sadiq *et al.*, 2017; Valenzuela-Cota *et al.*, 2019). Es por ello que en esta investigación se seleccionó a *Acacia cochliacantha*, *Acacia constricta*, *Bursera hindsiana*, *Bursera laxiflora*, *Bursera microphylla* y *Jacquinia macrocarpa* ssp. *pungens*, pertenecientes a la etnofarmacopea del noroeste de México, para determinar su potencial actividad antioxidante y antiproliferativo (Yetman y Van Devender, 2002).

*Autores para correspondencia: Ramón Enrique Robles Zepeda
 Correo electrónico: robles.zepeda@unison.mx

Recibido: 01 de diciembre de 2019

Aceptado: 22 de febrero de 2020

MATERIALES Y MÉTODOS

Equipos y reactivos

Los radicales 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) y 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) pertenecen a la marca Sigma-Aldrich, al igual que Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), el 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), Trolox de Sigma-Aldrich y el Dimethyl sulfoxide (DMSO). Los equipos utilizados fueron los siguientes; incubadora de células eucariotas con control de temperatura a 37 °C y mantenimiento de atmosfera al 5% de CO₂ de la marca Thermo Scientific, campana de flujo laminar equipada con filtros HEPA y lector de placas BMG LABTECH's POLARstar Omega.

Líneas celulares y cultivo celular

Las LC L929 (tejido conectivo subcutáneo murino normal) y HeLa (carcinoma humano de cérvix) fueron obtenidas por parte de la American Type Culture Collection (ATCC), A594 (carcinoma alveolar humano), M12A^k.C3.F6 (linfoma de células B murinas) y RAW 264.7 (leucemia de macrófagos transformadas por el virus de Albenson) fueron proporcionadas por el Dr. Emil A. Unanue del Departamento de Patología e Inmunología de la Universidad de Washington. Todas las células fueron cultivadas en el medio de cultivo DMEM suplementado al 5% con suero fetal bovino (D5F), en una atmósfera al 5% de CO₂ a 37°C.

Obtención de resinas y extractos metanólicos

Las resinas de *B. hindisiana* y *B. microphylla* fueron colectadas directamente de los troncos de plantas ubicadas en la región de Bahía de Kino, en Hermosillo Sonora, México. Los extractos metanólicos fueron obtenidos a partir de las partes aéreas de *A. cochliacantha*, de *A. constricta*, y de *J. macrocarpa ssp pungens*, la corteza de *B. laxiflora* y las cáscaras del fruto de *J. macrocarpa ssp pungens*. El material vegetal fue secado a temperatura ambiente para posteriormente ser molido en un molino tipo Wiley, y reposar en metanol (MeOH) a una relación 1:10 p/v de material vegetal durante 10 días, con periodos regulares de agitación. La solución metanólica obtenida se sometió a filtración para finalmente secarla a presión reducida a 40°C por rotaevaporación. El extracto crudo resultante fue secado a temperatura ambiente y almacenado en recipientes color ámbar a -4 °C hasta su uso posterior.

Capacidad reductora del radical ABTS

Se prepararon soluciones de las muestras a concentraciones seriadas de 200 µg/mL a 12.5 µg/mL, utilizando etanol (EtOH) como disolvente. Fueron disueltos 19.3 mg de ABTS en 5 mL de H₂O, a esta disolución se le agregaron 88 µL de K₂S₂O₈ 140 µM y se dejó reposar por 16 h en oscuridad a temperatura ambiente. Posteriormente se preparó una solución con EtOH a 0.7 de absorbancia con una longitud de onda de 730 nm, utilizando EtOH como blanco. Se colocaron 295 µL de la solución en los pozos de una placa de 96, al cual se le agregaron 5 µL de las soluciones de extractos y resinas diluidas en EtOH, se dejó reposar por 5 min a temperatura

ambiente y finalmente se realizaron las lecturas en un lector de placas, utilizando una longitud de onda de 730 nm. Los resultados son expresados en microgramos equivalentes a trolox (µgET/mL) utilizando el mismo procedimiento para construir una recta con el antioxidante trolox a concentraciones de 10 a 200 µg/mL (Sridhar y Charles, 2019).

Capacidad reductora del radical DPPH

Se prepararon soluciones de las muestras a concentraciones seriadas de 200 µg/mL a 12.5 µg/mL, utilizando MeOH como disolvente. El reactivo DPPH fue disuelto en MeOH y ajustado a una absorbancia de 0.7 a 515 nm. En una placa de 96 pozos se colocaron 280 µL de la solución DPPH/MeOH y se le adicionaron 20 µL de las soluciones de las muestras (volumen final 300 µL). Posteriormente, esta solución se dejó reposar por 30 min en la oscuridad a temperatura ambiente. Por último, la placa fue leída a una longitud de onda de 515 nm en un lector de placas, utilizando MeOH como blanco. Se realizó el mismo procedimiento para la construcción de una curva de actividad antioxidante del trolox a concentraciones de 100 µg/mL a 5 µg/mL, y se expresaron los resultados en µgET/mL (Sridhar y Charles, 2019).

Medición de la Viabilidad Celular Mediante el Ensayo MTT

El ensayo del MTT se basa en la reducción metabólica realizada por la mitocondria sobre este compuesto por la enzima succinato-deshidrogenasa, formando un compuesto coloreado llamado formazán. De esta manera se determina la funcionalidad de las mitocondrias de las células tratadas. La cantidad de células vivas es proporcional a la cantidad de formazán obtenido. Para evaluar la actividad antiproliferativa de las muestras, los extractos y resinas fueron disueltos en DMSO a 40 mg/mL, y posteriormente en D5F realizando soluciones seriadas de 400 µg/mL a 6.25 µg/mL. Se preparó una suspensión celular de 200,000 cel/mL que se distribuyó en una placa de 96 pozos colocando 50 µL de la suspensión en cada pozo. Se incubó la placa a 37 °C y atmósfera de 5% de CO₂ por un tiempo de 24 h. Posteriormente, se agregó a cada pozo 50 µL de las diluciones de las muestras y se dejó incubar en condiciones de cultivo por 48 h, con observaciones periódicas al microscopio en lapsos de 24 h a 48 h. Después de haber hecho las observaciones pertinentes en un lapso de 48 h, se realizó un lavado a la placa con una solución de soporte de fosfatos 1 X (PBS 1X) (excepto a las células M12A^k.C3.F6) y se añadió nuevamente 100 µL de D5F. Finalmente, se agregaron 10 µL de una solución de MTT de 5 mg/mL en PBS 1X y se dejó reposar por 4 h en condiciones de cultivo. Una vez concluido el tiempo de reposo, los cristales de formazán formados se disolvieron en 100 µL de isopropanol acidificado y las lecturas se realizaron en un lector de placas a una longitud de onda dual de 570 nm y 630 nm. Se utilizó como control concentraciones de DMSO de 0.01-0.25% en las LC, las cuales no mostraron ningún tipo de daño celular (Torres-Moreno *et al.*, 2015).

Índice de Selectividad

El índice de selectividad de los extractos y resinas, se refiere a la relación de la susceptibilidad a la inhibición del crecimiento entre la LC normal y la LC cancerosa: IC_{50} LC normal / IC_{50} LC cancerosa. En la cual, >1 ; indica que el tratamiento es selectivo hacia la LC cancerosa, y <1 cuando el tratamiento tiene mayor selectividad por la LC no cancerosa (Torres-Moreno, 2017)

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Actividad antioxidante

El ABTS es un sustrato de la peroxidasa, que al oxidarse en presencia de H_2O_2 se produce el catión radical $ABTS^+$. En solución, este radical presenta un color verde intenso y puede ser monitoreado por espectrofotometría en un intervalo de longitud de onda de 600-750 nm. Al reaccionar el catión $ABTS^+$ con un antioxidante, éste se neutraliza a través de la captación de un electrón por parte del agente antioxidante. La neutralización del radical $ABTS^+$ en solución, se percibe por la decoloración gradual del verde intenso (Karadag et al., 2009). Por otro lado, el radical DPPH tiene la característica de presentar un electrón desapareado en su estructura, que en solución presenta un color púrpura. La absorbancia máxima del DPPH en solución se presenta a una longitud de onda 515-517 nm en el espectrofotómetro. Estas características cambian cuando el DPPH acepta un protón, estabilizando la estructura del radical a DPPH-H, el cual presenta un color amarillo en solución (Tirzitis y Bartosz, 2010).

Los extractos metanólicos de *A. cochliacantha* y *B. laxiflora* tienen un comportamiento de actividad antioxidante dosis dependiente, tanto para el método ABTS (tabla 1) como para el DPPH (tabla 2). En el resto de las muestras, la actividad antioxidante se mantiene estable sin diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones evaluadas. Los resultados obtenidos en ambas especies de *Acacia*, a pesar de pertenecer al mismo género, muestran que la capacidad estabilizadora de radicales libres no es igual, esto debido a que *A. cochliacantha* tiene mayor actividad antioxidante que *A. constricta*. Otra diferencia se observa al comparar los resultados obtenidos de *A. cochliacantha* y *A. constricta*, con los publicados por Agrawal et al. (2010) para *Acacia nilotica*. En este artículo se reporta una fuerte actividad antioxidante sobre el radical DPPH, donde a una concentración de 10 μ g/mL neutraliza más del 90% del radical. Para que *A. cochliacantha* pueda estabilizar la mitad de lo que *A. nilotica* inhibe con 10 μ g/mL, es necesaria una concentración veinte veces mayor, es decir, *A. cochliacantha* tiene la capacidad de estabilizar el 45 % del radical DPPH solo a 200 μ g/mL (tabla 3). Esto sugiere que la cantidad de antioxidantes que contiene el género *Acacia*, no es homogénea entre sus especies (Agrawal et al., 2010).

B. laxiflora presentó la mayor actividad antioxidante de las seis plantas evaluadas, en cambio, la capacidad estabilizadora de radicales libres de *B. hindsiana* y *B. microphylla* se mantuvo estable en todas las concentraciones estudiadas para ABTS, y sin capacidad estabilizadora del radical DPPH.

Tabla 1. Actividad antioxidante en μ gET/mL* de extractos metanólicos y resinas por el método ABTS.

Table 1. Antioxidant activity in μ gET/mL* of methanolic extracts and resins by the ABTS method.

Planta	Concentración en μ g/mL**				
	200	100	50	25	12.5
<i>A. cochliacantha</i>	63.7 \pm 11.4 ^{A,b}	41.7 \pm 12 ^{B,b}	24 \pm 3.2 ^{BC,b}	22 \pm 3.1 ^{BC,a}	18.8 \pm 2.8 ^{C,a}
<i>A. constricta</i>	26.8 \pm 3.0 ^{A,c}	22.7 \pm 4.5 ^{A,b}	21.3 \pm 2.3 ^{A,b}	19.4 \pm 3.3 ^{A,a}	17.9 \pm 3.9 ^{A,a}
<i>B. hindsiana</i> [§]	22.9 \pm 11.6 ^{A,c}	22.0 \pm 11.4 ^{A,b}	17.1 \pm 4.5 ^{A,b}	17.7 \pm 5.3 ^{A,a}	17.6 \pm 4.0 ^{A,a}
<i>B. laxiflora</i>	105.8 \pm 5.3 ^{A,a}	63.9 \pm 2.3 ^{B,a}	41.2 \pm 2.8 ^{C,a}	30.6 \pm 4.1 ^{D,a}	28.7 \pm 1.1 ^{D,a}
<i>B. microphylla</i> [§]	20.5 \pm 4.9 ^{A,c}	20.1 \pm 4.2 ^{A,b}	18.7 \pm 4.0 ^{A,b}	19.0 \pm 6.1 ^{A,a}	18.4 \pm 4.4 ^{A,a}
<i>J. macrocarpa</i> ssp. <i>pungens</i> ^{CF}	24.7 \pm 6.1 ^{A,c}	21.3 \pm 8.0 ^{A,b}	18.1 \pm 9.1 ^{A,b}	16.9 \pm 7.5 ^{A,a}	15.6 \pm 8.5 ^{A,a}
<i>J. macrocarpa</i> ssp. <i>pungens</i> ^{PA}	26.2 \pm 5.4 ^{A,c}	21.7 \pm 7.6 ^{A,b}	18.2 \pm 6.8 ^{A,b}	17.6 \pm 7.9 ^{A,a}	± 7.7 ^{A,a}

* Microgramos equivalentes a Trolox por mililitro de muestra (μ gET/mL) / Trolox Equivalent micrograms by milliliter of sample; $R^2 = 0.9942$, $y = 0.4166x + 2.9198$.

** Los valores obtenidos representan tres experimentos independientes \pm su desviación estándar / The values obtained represent three independent experiments \pm standard deviation.

§ Resinas / Resins.

CF Cáscaras de fruto / Fruit peels.

PA Partes aéreas / Aerial parts.

A-D Diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de cada especie vegetal (horizontal) / Statistically significant differences between the concentrations of each plant species (horizontal). ANOVA one-way; post-hoc Tukey ($p < 0.05$).

a-c Diferencias estadísticamente significativas entre las especies vegetales de cada concentración (vertical) / Statistically significant differences between plant species to be found in each concentration (vertical). ANOVA one-way; post-hoc Tukey ($p < 0.05$).

Un estudio de actividad antioxidante realizado sobre el extracto metanólico de corteza de *Bursera simaruba* indica una pobre capacidad de neutralizar a los radicales ABTS y DPPH, pues bien, la concentración en la que neutraliza el 50% del radical es de 0.525 mg/mL y 0.506 mg/mL para ABTS y DPPH respectivamente (Bah et al., 2014). En cambio, el extracto metanólico de la corteza de *B. laxiflora*, a 200 μ g/mL, neutraliza el 46.9% del radical ABTS, y con 100 μ g/mL, el 50.2% del radical DPPH (tabla 3). Esto puede significar que los compuestos antioxidantes de *Bursera* se mantienen en la corteza, y al momento de formarse las resinas los antioxidantes no son secretados, o bien, estos si se encuentran presentes en las resinas, pero ya en su forma oxidada.

Actividad Antiproliferativa e Índice de Selectividad

Ciertos antioxidantes, como lo es el grupo de los flavonoides, son conocidos por su capacidad estabilizadora de radicales libres. Sin embargo, algunas moléculas de este grupo tienen la capacidad de inducir mecanismos que activan la muerte celular en células cancerosas, e inhibir la proliferación

Tabla 2. Actividad antioxidante en $\mu\text{gET/mL}^*$ de extractos metanólicos y resinas por el método DPPH.

Table 2. Antioxidant activity in $\mu\text{gET/mL}^*$ of methanolic extracts and resins by the DPPH method.

Planta	Concentración en $\mu\text{g/mL}^{**}$				
	200	100	50	25	12.5
<i>A.cochliacantha</i>	41.5 \pm 0.3 ^{A, b}	20.4 \pm 1.6 ^{B, b}	8.6 \pm 1.1 ^{C, b}	2.0 \pm 1.3 ^{D, b}	0.0 ^{D, b}
<i>A.constricta</i>	2.2 \pm 1.5 ^{A, d}	0.2 \pm 2.4 ^{A, c}	0.7 \pm 2.5 ^{A, c}	0.0 ^{A, c}	0.0 ^{A, b}
<i>B.hindsiana</i> [§]	0.0 ^{A, d}	0.0 ^{A, c}	0.0 ^{A, c}	0.0 ^{A, c}	0.0 ^{A, b}
<i>B.laxiflora</i>	95.0 \pm 0.7 ^{A, a}	47.8 \pm 0.7 ^{B, a}	23.6 \pm 0.8 ^{C, a}	7.4 \pm 0.2 ^{D, a}	3.7 \pm 0.6 ^{E, a}
<i>B.microphylla</i> [§]	0.0 ^{A, d}	0.0 ^{A, c}	0.0 ^{A, c}	0.0 ^{A, c}	0.0 ^{A, b}
<i>J.macrocarpa ssp.pungens</i> ^{CF}	5.9 \pm 2.4 ^{A, c}	0.04 \pm 2.2 ^{B, c}	0.0 ^{B, c}	0.0 ^{B, c}	0.0 ^{B, b}
<i>Jacquinia macrocarpa ssp.pungens</i> ^{PA}	0.0 ^{A, d}	0.0 ^{A, c}	0.0 ^{A, c}	0.0 ^{A, c}	0.0 ^{A, b}

* Microgramos equivalentes a Trolox por mililitro de muestra ($\mu\text{gET/mL}$) / Trolox Equivalent micrograms by milliliter of sample; $R^2=0.9942$, $y=0.4166x + 2.9198$

** Los valores obtenidos representan tres experimentos independientes \pm su desviación estándar / The values obtained represent three independent experiments \pm standard deviation

§ Resinas / Resins.

^{CF} Cáscaras de fruto / Fruit peels

^{PA} Partes aéreas / Aerial parts.

^{A-E} Diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de cada especie vegetal (horizontal) / Statistically significant differences between the concentrations of each plant species (horizontal). ANOVA one-way; post-hoc Tukey ($p < 0.05$).

^{a-c} Diferencias estadísticamente significativas entre las especies vegetales de cada concentración (vertical) / Statistically significant differences between plant species to be found in each concentration (vertical). ANOVA one-way; post-hoc Tukey ($p < 0.05$).

Tabla 3. Actividad antioxidante en porcentaje de inhibición de los radicales ABTS y DPPH de extractos y resinas.

Table 3. Antioxidant activity in percent inhibition of ABTS and DPPH radicals of extracts and resins.

Planta / Radical	Concentración $\mu\text{g/mL}$									
	200		100		50		25		12.5	
	DPPH	ABTS	DPPH	ABTS	DPPH	ABTS	DPPH	ABTS	DPPH	ABTS
<i>A. cochliacantha</i>	45.4	29.5	29.4	20.3	20.4	12.9	15.4	12.1	12.5	10.7
<i>A. constricta</i>	15.5	14.1	14.1	12.4	14.5	11.8	12.4	11	11.6	10.3
<i>B. hindsiana</i> [§]	10.5	12.5	10.5	12.1	10.8	10.1	10.3	10.3	10.8	10.2
<i>B. laxiflora</i>	85.9	46.9	50.2	29.6	31.8	20.1	19.5	15.7	16.7	14.9
<i>B. microphylla</i> [§]	11.1	12.3	11.7	12.2	10.9	11.2	11.5	11.6	10.6	11.2
<i>J. macrocarpa ssp. pungens</i> (cáscara fruto)	17.1	13.2	13.9	11.8	12.9	10.4	11.8	9.8	11.6	9.4
<i>J. macrocarpa ssp. pungens</i> (partes aéreas)	12.5	13.85	11.7	11.9	11.5	10.5	11.5	10.2	11.6	9.84

Los valores tabulados representan el porcentaje de inhibición del radical indicado con la concentración del extracto señalada / tabulated values represent the percentage of inhibition of the radical indicated with the concentration of the extract indicated

§ Resinas / Resins.

celular. Estos polifenoles modulan vías de señalización paralizando la progresión y desarrollo del cáncer, así como activando señales de muerte celular que pueden inducir la apoptosis en las células malignas y pre-cancerosas (Abbas *et al.*, 2017).

El extracto metanólico de las cáscaras de fruto de *J. macrocarpa ssp.pungens* exhibe la mejor actividad antiproliferativa en las cuatro LC cancerosas (tabla 4) comparado con las otras muestras evaluadas. Adicionalmente, la LC menos susceptible al extracto es L929 (IC_{50} 47.8 $\mu\text{g/mL}$), lo que indica un comportamiento del tipo selectivo contra las LC cancerosas (tabla 5). Este comportamiento también lo presenta el extracto metanólico de las partes aéreas de la misma planta, pero con valores de IC_{50} más elevados. Estudios de actividad antiproliferativa realizadas sobre *Bonellia albiflora* (*Jacquinia albiflora*), reportan, que el extracto metanólico de hojas po-

see una IC_{50} de 47.05 $\mu\text{g/mL}$ en HeLa (Moo-Puc *et al.*, 2013), lo que demuestra que su actividad en esta LC es mayor que el extracto de partes aéreas de *J. macrocarpa ssp. pungens*, pero con valores próximos a los observados para el extracto de las cáscaras del fruto. Es poco probable que los compuestos responsables por la actividad antiproliferativa en *Jacquinia* sean compuestos fenólicos, esto debido a que los extractos evaluados no poseen actividad antioxidante, además, solo se han reportado triterpenos glucosilados para especies de este género (García-Sosa *et al.*, 2011; Vila-Luna *et al.*, 2017), por lo que probablemente, este tipo de compuestos sean los responsables por la actividad antiproliferativa en las LC cancerosas (Sofi *et al.*, 2018).

El género *Bursera* es estudiado actualmente por sus propiedades biológicas en sistemas *in vitro*. En el presente estudio, podemos observar actividades antiproliferativas im-

Tabla 4. Actividad antiproliferativa de seis plantas medicinales.
Table 4. Antiproliferative activity of six medicinal plants.

Planta	IC50 en $\mu\text{g/mL}^*$				
	A549	HeLa	M12Ak.C3.F6	RAW264.7	L929
<i>A. cochliacantha</i>	ND**	164.7 \pm 35 ^e	113.8 \pm 14.5 ^e	168.9 \pm 15.5 ^d	120.4 \pm 9.1 ^c
<i>A. constricta</i>	ND**	116.7 \pm 3.1 ^d	110.6 \pm 13.3 ^e	112.6 \pm 7.1 ^c	115.2 \pm 2.2 ^c
<i>B. hindsiana</i> [§]	91.0 \pm 5.6 ^d	95.3 \pm 2.4 ^c	60.4 \pm 4.7 ^c	58.7 \pm 2.3 ^b	96.8 \pm 1.3 ^b
<i>B. laxiflora</i>	198.2 \pm 7.4 ^e	93.7 \pm 5.4 ^c	98.0 \pm 3.2 ^d	117.4 \pm 1.5 ^c	ND**
<i>B. microphylla</i> [§]	53.8 \pm 1.4 ^c	13.8 \pm 1.4 ^a	26.0 \pm 2.1 ^a	21.9 \pm 3.1 ^a	39.3 \pm 0.9 ^a
<i>J. macrocarpa</i> ssp. <i>pungens</i> (cáscara fruto)	9.2 \pm 2.2 ^a	40.8 \pm 2.3 ^b	22.0 \pm 2.0 ^a	26.6 \pm 1.4 ^a	47.8 \pm 2.0 ^a
<i>J. macrocarpa</i> ssp. <i>pungens</i> (partes aéreas)	45.4 \pm 0.6 ^b	85.5 \pm 4.4 ^c	45.0 \pm 2.0 ^b	47.7 \pm 0.6 ^b	87.2 \pm 4.0 ^b

* Los valores obtenidos representan tres experimentos independientes \pm su desviación estándar.

** ND; IC50 no detectada a la máxima concentración evaluada (200 $\mu\text{g/mL}$) / IC50 Not detected the maximum concentration evaluated (200 $\mu\text{g/mL}$)

§ Resinas / Resins.

a-e Diferencias estadísticamente significativas entre las IC50 de las especies vegetales en la misma línea celular (vertical) / Statistically significant differences between the IC50 of the plant species in the same cell line (vertical). ANOVA one-way; post-hoc Tukey ($p < 0.05$).

Tabla 5. Índice de selectividad de extractos metanólicos y resinas en las líneas celulares cancerosas ^a.**Table 5.** Selectivity index of methanolic extracts and resins in the cancer cell lines ^a.

Planta	Líneas celulares cancerosas ^{b,c}			
	A549	HeLa	M12Ak.C3.F6	RAW264.7
<i>A. cochliacantha</i>	<1	0.73	1.06	0.71
<i>A. constricta</i>	<1	0.99	1.04	1.02
<i>B. hindsiana</i> [§]	1.06	1.01	1.6	1.65
<i>B. laxiflora</i>	>1	>1	>1	>1
<i>B. microphylla</i> [§]	0.73	2.85	1.51	1.79
<i>J. macrocarpa</i> ssp. <i>pungens</i> ^{CF}	5.2	1.17	2.17	1.8
<i>J. macrocarpa</i> ssp. <i>pungens</i> ^{PA}	1.92	1.02	1.94	1.83

^a Relación de actividad antiproliferativa de las células cancerosas respecto a la línea celular no cancerosa / Relationship of antiproliferative activity of cancer cells with respect to the non-cancerous cell line

^b Valores <1; Selectividad sobre línea celular normal / Values <1; Selectivity on the normal cell line.

^c Valores >1; Selectividad sobre línea celular cancerosa / Values >1; Selectivity on cancer cell line.

[§] Resinas/Resins.

^{CF} Cáscaras de fruto / Fruit peels.

^{PA} Partes aéreas / Aerial parts.

portantes en las tres especies de *Bursera*, siendo el extracto metanólico de *B. laxiflora* el que demostró actividad antiproliferativa del tipo selectivo en las LC cancerosas, debido a que la IC₅₀ para L929 no pudo ser calculada por no presentar cambios aparentes en la proliferación celular a la máxima concentración evaluada de 200 $\mu\text{g/mL}$ (tabla 3 y 4). No obstante, la resina de *B. microphylla* es la que presenta la mejor actividad antiproliferativa en las cuatro LC cancerosas, en comparación con las otras dos especies del género *Bursera*, siendo la LC humana de cáncer cervicouterino, HeLa, la más afectada por esta resina, donde solo es necesario 13.8 $\mu\text{g/mL}$ para inhibir el 50% de la proliferación celular. Otros estudios han llegado más lejos; un claro ejemplo es el aislamiento de compuestos

con actividad antiproliferativa de *Bursera fagaroides*. En *B. fagaroides* se aislaron lignanos que presentan fuerte actividad antiproliferativa contra diferentes líneas celulares. Los lignanos son compuestos fenólicos que presentan actividad antioxidante, que también han sido aislados de *B. simuraba*, y que pudieran explicar la actividad antioxidante y antiproliferativa de *B. laxiflora* (Rojas-Sepúlveda et al., 2012).

La resina de *B. microphylla*, y el extracto metanólico de *J. macrocarpa* ssp. *pungens* son las únicas dos muestras que presenten IC₅₀ consideradas citotóxicas, con valores menores a 30 $\mu\text{g/mL}$, según lo establecido instituto nacional del cáncer de los Estados Unidos (American National Cancer Institute) (Ogbole, Segun y Adeniji, 2017).

CONCLUSIÓN

De las seis especies evaluadas, *J. macrocarpa ssp. pungens*, tanto del extracto de las partes aéreas como de las cáscaras de fruto, y *B. microphylla*, poseen la mayor actividad antiproliferativa, y debido a la actividad antioxidante que presentan, es poco probable que los compuestos responsables por la actividad antiproliferativa sean compuestos fenólicos. Por otra parte, *B. laxiflora* mostró los resultados más interesantes de toda la investigación; la mejor actividad antioxidante de las muestras evaluadas y actividad antiproliferativa del tipo selectivo. Estos resultados, en conjunto con los estudios fitoquímicos reportados para el género *Bursera*, indican que es probable que los compuestos responsables por la actividad antioxidante y antiproliferativa, en *B. laxiflora*, sean del tipo lignano. En conjunto, independiente de la actividad antioxidante, las tres especies herbales son una fuente potencial de moléculas con actividad antiproliferativa para LC cancerosas.

REFERENCIAS

- Abbas, M., Saeed, F., Anjum, F.M., Afzaal, M., Tufail, T., Bashir, M.S., Ishtiaq, A., Hussain, S., Suleria, H.A.R., 2017. Natural polyphenols: An overview. *Int. J. Food Prop.* <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1220393>
- Afsar, T., Razak, S., Shabbir, M., Khan, M.R., 2018. Antioxidant activity of polyphenolic compounds isolated from ethyl-acetate fraction of *Acacia hydaspica* R. Parker. *Chem. Cent. J.* <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0373-x>
- Agrawal, S., Kulkarni, G.T., Sharma, V.N., 2010. ORIGINAL ARTICLE A Comparative Study on the Antioxidant Activity of Methanol Extracts of *Acacia*. *Alcohol* 4, 78–84.
- Aldaco-Sarvide, F., Pérez-Pérez, P., Cervantes-Sánchez, G., Torrecillas-Torres, L., Erazo-Valle-Solís, A.A., Cabrera-Galeana, P., Motola-Kuba, D., Anaya, P., Rivera-Rivera, S., Cárdenas-Cárdenas, E., 2019. Mortalidad por Cáncer en México: actualización 2015. *Gac. Mex. Oncol.* <https://doi.org/10.24875/j.gamo.m18000105>
- Bah, M., Gutiérrez-Avella, D.M., Mendoza, S., Castañeda-Moreno, R., Rodríguez-López, V., 2014. Chemical constituents and antioxidant activity of extracts obtained from branch bark of *Bursera simaruba*. *Bol. Latinoam. y del Caribe Plantas Med. y Aromat.*
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R.L., Torre, L.A., Jemal, A., 2018. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA. Cancer J. Clin.* <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- Fon-Fay, F.M., Pino, J.A., Hernández, I., Rodeiro, I., Fernández, M.D., 2019. Chemical composition and antioxidant activity of *Bursera graveolens* (Kunth) Triana et Planch essential oil from Manabí, Ecuador. *J. Essent. Oil Res.* <https://doi.org/10.1080/10412905.2018.1564381>
- García-Sosa, K., Sánchez-Medina, A., Álvarez, S.L., Zacchino, S., Veitch, N.C., Simá-Polanco, P., Peña-Rodríguez, L.M., 2011. Antifungal activity of sakurasosaponin from the root extract of *Jacquinia flammea*. *Nat. Prod. Res.* 25, 1185–1189. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.511215>
- Gigliarelli, G., Zadra, C., Cossignani, L., Robles Zepeda, R.E., Rascón-Valenzuela, L.A., Velázquez-Contreras, C.A., Marcotullio, M.C., 2018. Two new lignans from the resin of *Bursera microphylla* A. gray and their cytotoxic activity. *Nat. Prod. Res.* <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1375922>
- Karadag, A., Ozcelik, B., Saner, S., 2009. Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Anal. Methods.* <https://doi.org/10.1007/s12161-008-9067-7>
- Moloney, J.N., Cotter, T.G., 2018. ROS signalling in the biology of cancer. *Semin. Cell Dev. Biol.* <https://doi.org/10.1016/j.semdb.2017.05.023>
- Moo-Puc, R., Chale-Dzul, J., Caamal-Fuentes, E., 2013. Bonellia albiflora: A Mayan Medicinal Plant That Induces Apoptosis in Cancer Cells. *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.* 2013, 823453. <https://doi.org/10.1155/2013/823453>
- Ogbole, O.O., Segun, P.A., Adeniji, A.J., 2017. In vitro cytotoxic activity of medicinal plants from Nigeria ethnomedicine on Rhabdomyosarcoma cancer cell line and HPLC analysis of active extracts. *BMC Complement. Altern. Med.* <https://doi.org/10.1186/s12906-017-2005-8>
- Rojas-Sepúlveda, A.M., Mendieta-Serrano, M., Mojica, M.Y.A., Salas-Vidal, E., Marquina, S., Villarreal, M.L., Puebla, A.M., Delgado, J.I., Alvarez, L., 2012. Cytotoxic podophyllotoxin type-lignans from the stem bark of *Bursera fagaroides* var. *fagaroides*. *Molecules.* <https://doi.org/10.3390/molecules17089506>
- Sadiq, M.B., Tharaphan, P., Chotivanich, K., Tarning, J., Anal, A.K., 2017. In vitro antioxidant and antimalarial activities of leaves, pods and bark extracts of *Acacia nilotica* (L.) Del. *BMC Complement. Altern. Med.* <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1878-x>
- Sofi, M.S., Nabi, S., Mohammed, C., Sofi, S., 2018. The role of phytochemicals in cancer treatment: A current review. ~ 83 ~ *J. Med. Plants Stud.*
- Sridhar, K., Charles, A.L., 2019. In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH [rad] and ABTS [rad] assays: Estimation methods for EC 50 using advanced statistical programs. *Food Chem.* <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.040>
- Tirzitis, G., Bartosz, G., 2010. Determination of antiradical and antioxidant activity: Basic principles and new insights. *Acta Biochim. Pol.* https://doi.org/10.18388/abp.2010_2386
- Torres-Moreno, H., 2017. Mecanismos moleculares de triterpenos de *Ibervillea sonorae* asociados a la muerte celular por apoptosis in vitro e in vivo. Universidad de Sonora.
- Torres-Moreno, H., Velázquez, C.A., Garibay-Escobar, A., Curini, M., Marcotullio, M.C., Robles-Zepeda, R.E., 2015. Antiproliferative and apoptosis induction of cucurbitacin-type triterpenes from *Ibervillea sonorae*. *Ind. Crops Prod.* 77, 895–900. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.055>
- Valenzuela-Cota, D.F., Buitimea-Cantúa, G. V., Plascencia-Jatomea, M., Cinco-Moroyocui, F.J., Martínez-Higuera, A.A., Rosas-Burgos, E.C., 2019. Inhibition of the antioxidant activity of catalase and superoxide dismutase from *Fusarium verticillioides* exposed to a *Jacquinia macrocarpa* antifungal fraction. *J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes.* <https://doi.org/10.1080/03601234.2019.1622978>
- Vila-Luna, S.E., Moo-Puc, R.E., Torres-Tapia, L.W., Peraza-Sánchez, S.R., 2017. New metabolites with cytotoxic and antiproliferative activities isolated from *Bonellia macrocarpa*. *Phytochem. Lett.* <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2016.12.016>
- Yetman, D., Van Devender, T.R., 2002. *Mayo Ethnobotany*, 1st ed. University of California Press.