



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

---

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO  
POSTGRADO DE BOTÁNICA

ESTUDIO BIODIRIGIDO DE *Sechium edule* (Jacq.) Sw.  
(Cucurbitaceae)

MARÍA ELENA MONROY VÁZQUEZ

T E S I S  
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO  
2008

La presente tesis titulada: “**ESTUDIO BIODIRIGIDO DE *Sechium edule* (JACQ.) SW. (Cucurbitaceae)**”. Realizada por la alumna **MARÍA ELENA MONROY VÁZQUEZ**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS  
BOTÁNICA**

**CONSEJO PARTICULAR**

Consejero:



Dr. R. Marcos Soto Hernández

Asesor:



Dr. Jorge Cadená Iñiguez

Asesor:



Dra. Lucero del Mar Ruiz Posadas

Asesor:



Dr. Edelmiro Santiago Osorio

# ESTUDIO BIODIRIGIDO DE *Sechium edule* (Jacq.) Sw. (Cucurbitaceae)

María Elena Monroy Vázquez, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2008.

## RESUMEN

*Sechium edule* (chayote) es una especie neotropical con amplia variación biológica, la cual se aprecia principalmente en la forma, color y sabor de los frutos, los cuales han sido utilizados como fuente de alimento y medicina. En esta investigación se usaron frutos de *S. edule* var. *nigrum spinosum* con el objetivo de evaluar la actividad antiproliferativa y citotóxica en dos líneas tumorales (L-929 y HeLa); además, para aislar y caracterizar los componentes de mayor actividad a partir de un extracto alcohólico. El extracto se fraccionó por cromatografía en columna, los ensayos biológicos se realizaron con los extractos y las fracciones principales. Se evaluaron seis concentraciones (0, 0.047, 0.23, 0.47, 1.18, 2.37 mg·mL<sup>-1</sup>) en las líneas celulares. De las cuatro fracciones aisladas, tres mostraron actividad antiproliferativa y citotóxica en ambas líneas de tipo dosis dependiente. El análisis de resonancia magnética nuclear de hidrógeno (<sup>1</sup>HNMR) y la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) reveló que los componentes mayoritarios de la fracción más activa fueron: ester metílico del ácido hexadecanoico, ester etílico del ácido hexadecanoico, ester metílico del ácido 10-octadecenoico, ester metílico del ácido octadecanoico, ester octílico del ácido octadecenoico y ester metílico del ácido 9-oxo-nonanoico.

# BIOASSAY-GUIDED FROM *Sechium edule* (Jacq.) Sw. (Cucurbitaceae)

María Elena Monroy Vázquez, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2008.

## ABSTRACT

*Sechium edule* (chayote) is a neotropical specie with wide variation biological, which can be seen mainly in the form color and flavor of the fruit, which have been used as a source of food and medicine. In this research were used fruits of *S. edule* var. *nigrum spinosum* with the objective of assess the activity antiproliferative and cytotoxic in two tumor lines (L-929 and HeLa), also, isolate and characterize components more actives from an alcohol extract. The extract was fractionated by chromatography column, biological tests were performed with extracts and fractions main thereof, evaluating six concentrations (0, 0,047, 0.23, 0.47, 1.18, 2.37 mg·mL<sup>-1</sup>) on the cell lines. Of the four fractions isolated, three showed activity antiproliferative and cytotoxic in both lines of type dose dependent. The analysis nuclear magnetic resonance hydrogen (<sup>1</sup>HNMR) and gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) revealed that the main components of the most active fraction were: hexadecanoic acid methyl ester, hexadecanoic acid ethyl ester, 10-actadecenoic acid methyl ester, octadecanoic acid methyl ester, octadecenoic acid octhyl ester and nonanoic acid 9-oxo- methyl ester.

## AGRADECIMIENTOS

La presente tesis se realizó con el apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), así como del Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECyT), en el Colegio de Postgraduados *campus* Montecillos.

Al Colegio de Postgraduados y al Programa de Botánica, por haberme brindado la oportunidad de realizar mis estudios de maestría.

A mi consejero, el Dr. R. Marcos Soto Hernández, por el invaluable tiempo, dedicación e infinita paciencia mostrada durante la realización de este trabajo.

Al Dr. Jorge Cadena Iñiguez, por su tiempo, apoyo y valiosos consejos, que permitieron llevar a cabo el presente trabajo.

A la Dra. Lucero de Mar Ruiz Posadas, por su valiosa ayuda y disponibilidad en la elaboración de esta tesis.

Al Dr. Edelmiro Santiago, por su colaboración y correcciones que fueron de gran ayuda para la culminación de esta tesis.

A la Dra. Hortensia Rosas, por su tiempo y sus acertadas sugerencias, que permitieron mejorar este trabajo.

A las biólogas Ma. Del Carmen Lagunas Cruz y Norma Sosa Hernández, por todo el trabajo invertido en la realización de los ensayos biológicos.

Al Dr. Sergio Pérez Elizalde por la ayuda brindada en el manejo estadístico de los resultados.

A mis compañeros: J. Carlos, Ma. Elena R., J. Luis, Angie y Jair, que día a día hicieron grata mi estancia en el colegio. Especialmente a Mirreya, por su amistad y complicidad.

## DEDICATORIAS

A mis padres: Isabel Vázquez y Lorenzo Monroy, con profundo amor y respeto.  
Gracias por apoyarme y ayudarme a alcanzar cada una de mis metas.

A mis hermanos, por el amor, apoyo y protección que me han  
brindado durante toda la vida.

A mis sobrinos, por ser la alegría de la familia.

A Gerardo, gracias por esperarme.

## CONTENIDO

	Página	
1	Introducción	1
2	Antecedentes	3
	2.1 Descripción botánica de la especie	4
	2.1.1 Variación infraespecífica	7
	2.2 Distribución	8
	2.3 Uso medicinal y alimenticio	9
	2.4 Análisis fitoquímicos y Estudios farmacológicos	12
	2.5 Estrategias para la búsqueda de principios activos, un enfoque biodirigido	17
	2.6 Cáncer	20
3	Objetivo general	27
	3.1 Objetivos particulares	27
4	Materiales y métodos	28
	4.1 Estudio fitoquímico	28
	4.1.1 Material vegetal	28
	4.1.2 Preparación de los extractos	28
	4.1.3 Fraccionamiento del extracto metanólico	29
	4.2 Estudio farmacológico	30
	4.2.1 Material celular	30
	4.2.2 Evaluación de la actividad antiproliferativa	31
	4.2.3 Ensayo de citotoxicidad	32
	4.3 Identificación de las fracciones activas	32
	4.4 Análisis estadístico	33
5	Resultados y discusión	33
6	Conclusiones	60
7	Literatura citada	61

Apéndice 1	Efecto de los extractos crudos sobre la proliferación de las líneas tumorigénicas L-929 y HeLa.	83
Apéndice 2	Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno de la fracción 5-7 del extracto metanólico de frutos de <i>S. edule</i> var. <i>nigrum spinosum</i> .	86
Apéndice 3	Cromatograma de Gases de la fracción 5-7 del extracto metanólico de frutos de <i>S. edule</i> var. <i>nigrum spinosum</i> : (1) Ester metílico del ácido 9-oxo-nonanoico (2) ester metílico del ácido hexadecanoico (3) ester etílico del ácido hexadecanoico (4) ester metílico del ácido 10-octadecenoico (5) ester metílico del ácido octadecanoico (6) ester octílico del ácido octadecanoico.	87
Apéndice 4	Espectrometría de masas de la fracción 5-7 del extracto metanólico de frutos de <i>Sechiun edule</i> var. <i>nigrum spinosum</i> .	88
Apéndice 5	Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno de la fracción 78-85 de una fracción etérea del extracto metanólico de frutos de <i>S. edule</i> var. <i>nigrum spinosum</i> .	94
	Glosario	95



## LISTA DE CUADROS

Página

- 1 Composición nutritiva de 100g de órganos de chayote (Engels, 1983) 11
- 2 Contenido relativo de cucurbitacinas, SST y ácido ascórbico en ocho variedades de *Sechium edule* (Cadena-Iñiguez, 2005) 16
- 3 Efecto de los extractos alcohólicos crudos de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, sobre la proliferación celular de L-929 y HeLa. Valores promedios de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento de la densidad óptica de los cultivos expresados en absorbancia. 38
- 4 Análisis de varianza para las variables: líneas tumorales, extractos alcohólicos crudos y concentraciones de frutos de *S. edule* var. *nigrum spinosum*. 39
- 5 Efecto de tres fracciones del extracto metanólico de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, sobre la proliferación celular de L-929 y HeLa. Valores promedios de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento de la densidad óptica de los cultivos expresados en absorbancia. 48
- 6 Análisis de varianza para las variables: líneas tumorales, fracciones y concentraciones del extracto metanólico de frutos de *S. edule* var. *nigrum spinosum*. 49
- 7 Componentes mayoritarios, pesos moleculares y estructura química de la fracción 5-7 del extracto alcohólico de frutos de *S. edule* var. *nigrum spinosum* identificados por cromatografía de gases y espectrometría de masas 51

## LISTA DE FIGURAS

Página

1	Morfología de <i>Sechium edule</i> , a: raíz tuberosa, b: zarcillos, c: venación actinódroma, d: pecíolo, e y f: fruto con una sola semilla (modificado de Lira-Saade, 1996)	5
2	Polimorfismo foliar de ocho variedades de <i>Sechium edule</i> . A: cordiforme, B: deltada, C: palmolobulada, D: angulada, E: sectada, F: tripartida (Cadena-Íñiguez, 2005)	6
3	A flor estaminada (a) botón floral, (b) antesis, (c) vista lateral; B flor postilada (d) (e) botón floral, (f) antesis (Flores 1989)	6
4	Variedades Botánicas de <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw. (A) <i>nigrum xalapensis</i> (negro xalapa), (B) <i>amarus silvestryis</i> (amargo silvestre), (C1) <i>albus levis</i> (amarillo liso), (C2) <i>albus dulcis</i> (cambray), (C3) <i>albus minor</i> (castilla blanco), (D) <i>nigrum maxima</i> (caldero), (E) <i>nigrum minor</i> (castilla verde), (F) <i>nigrum levis</i> (castilla negro), (G) <i>virens levis</i> (verde liso), (H) <i>nigrum spinosum</i> (verde espinoso) (Cadena-Íñiguez <i>et al.</i> , 2007a).	8
5	Características de una célula maligna (Oliveira <i>et al.</i> , 2007)	22
6	Cromatoplaça de los extractos crudos. A: luz UV 365 nm; B: vainillina-ácido fosfórico. Las flechas indican las bandas violetas características de los triterpenos.	34
7	Efecto de los extractos etanólico y metanólico de frutos de <i>Sechium edule</i> var. <i>nigrum spinosum</i> , sobre la proliferación celular de la línea tumoral L-929. Los valores son producto de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento. Las líneas sobre las barras indican $\pm$ la desviación estándar.	35

- 8 Efecto de los extractos etanólico y metanólico de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, sobre la proliferación celular de la línea tumoral HeLa. Los valores son producto de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento. Las líneas sobre las barras indican  $\pm$  la desviación estándar. 36
- 9 Citotoxicidad de los extractos etanólico y metanólico de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, sobre la línea tumoral L-929. Los valores son producto de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento. Las líneas sobre las barras indican  $\pm$  la desviación estándar. 40
- 10 Citotoxicidad de los extractos etanólico y metanólico de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, sobre la línea tumoral HeLa. Los valores son producto de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento. Las líneas sobre las barras indican  $\pm$  la desviación estándar. 41
- 11 Fracciones principales del extracto metanólico de los frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum* 44
- 12 Actividad antiproliferativa de tres fracciones del extracto metanólico de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, sobre la línea tumoral L-929. Los valores son producto de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento. Las líneas sobre las barras indican  $\pm$  la desviación estándar. 46
- 13 Actividad antiproliferativa de tres fracciones del extracto metanólico de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, sobre la línea tumoral HeLa. Los valores son producto de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento. Las líneas sobre las barras indican  $\pm$  la desviación estándar. 47
- 14 Estructura química de  $\beta$ -amirina. 55
- 15 Actividad antiproliferativa de los extractos alcohólicos y tres fracciones del extracto metanólico de frutos de *Sechium edule* var. 56

- nigrum spinosum*, sobre la línea tumoral L-929. EE: extracto etanólico; EM: extracto metanólico. Los valores son producto de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento. Las líneas sobre las barras indican  $\pm$  la desviación estándar.
- 16 Actividad antiproliferativa de los extractos alcohólicos y tres fracciones del extracto metanólico de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, sobre la línea tumoral HeLa. EE: extracto etanólico; EM: extracto metanólico. Los valores son producto de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento. Las líneas sobre las barras indican  $\pm$  la desviación estándar.

## 1. INTRODUCCIÓN

Por siglos el hombre ha confiado en los productos naturales como fuente de agentes medicinales, la mayor parte obtenidos de plantas superiores, en la forma de preparaciones tradicionales o como principios activos puros (Farnsworth *et al.*, 1992); por lo que son un importante elemento de los sistemas médicos indígenas, resguardados como parte del conocimiento tradicional (Heinrich, 2000). El uso y el interés por este conocimiento han aumentado en investigadores, académicos e industriales, debido a que cerca de 80% de la población mundial emplea las plantas o sus extractos para el cuidado de la salud (Setzer y Setzer, 2003; Shoeb, 2006). De hecho, en algunas áreas terapéuticas, como la oncología muchos de los fármacos disponibles en la actualidad son derivados de los productos naturales (López-Pérez *et al.*, 2007).

El valor medicinal de las plantas está dado por sus constituyentes químicos, generalmente metabolitos secundarios (Bye *et al.*, 1992), que producen efectos fisiológicos y que en la naturaleza tienen la función de defensa química contra la herbivoría (Tallamy y Krischik, 1989). En las plantas, dichos metabolitos se sintetizan en células especializadas, se acumulan en pequeñas cantidades y en distintas etapas del desarrollo, lo que dificulta su extracción y purificación. A menudo muestran una gran complejidad estructural que puede determinar su actividad biológica; por ello, la síntesis de estos compuestos no es económicamente viable, así que la vía más razonable es obtenerlos es por extracción con disolventes orgánicos. Los metabolitos secundarios en su forma natural representan un enorme recurso científico y clínico para el desarrollo de nuevos fármacos (Balandrin *et al.*, 1985; Bartalis y Halaweish, 2005; Hostettmann *et al.*, 1995). Aunque en muchos casos, el o

los compuestos aislados de la planta no sirven directamente como fármacos, sino conducen al desarrollo de nuevos agentes antineoplásicos (Cragg y Newman, 2005).

La necesidad de promover la búsqueda de medicamentos de origen natural, surge por el incremento en la frecuencia de padecimientos mortales como el cáncer. Ésta enfermedad es una de las más extendidas en el panorama epidemiológico mundial desde finales del siglo XX, convirtiéndose en un grave problema de salud pública, no sólo por sus manifestaciones clínicas y su alta letalidad, sino también por la gran variedad de factores de riesgo con los que se asocia. Mundialmente se registraron 22 millones de casos y cada año se diagnostican 10 millones de nuevos casos (La Jornada, 2006). En México, el cáncer ocupa desde 2006, el tercer lugar como causa de muerte, cada año ocurren 61 mil decesos y se diagnostican 100 mil nuevos casos. Para el 2001, dicha enfermedad, correspondió a la pérdida de 33.5 años potenciales de vida (RHNM, 2007; INEGI, 2007; 2008).

En términos de tratamiento del cáncer, existen serias limitaciones debido a la falta de selectividad de los agentes quimioterapéuticos y a la resistencia desarrollada por algunas células cancerosas a dichos productos (Setzer y Setzer, 2003) por la formación de nuevas clonas, debido a su inestabilidad genética (Vega-Ávila *et al.*, 2006). Por ello, los compuestos fitoquímicos han sido investigados, proporcionando nuevos recursos para la industria quimioterapéutica (Cordell *et al.*, 1993; Mans *et al.*, 2000). En este contexto surge la necesidad de obtener nuevos principios activos de origen natural que amplíen las opciones farmacológicas y que puedan formar parte de medicamentos alternativos, a partir de la biodiversidad local (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2005). En esta investigación se usaron frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum* para evaluar la actividad antiproliferativa y

citotóxica sobre las líneas tumorales L-929 y HeLa; además, para aislar y caracterizar los componentes de mayor actividad a partir de un extracto alcohólico.

## 2. ANTECEDENTES

México es un país de gran riqueza biológica, ubicado dentro de los 12 países megadiversos del planeta (Rzedowski, 1991), considerado centro de origen y domesticación de entre 66 a 102 especies cultivadas, multiplicadas por sus diferentes variedades (Ortega-Paczka *et al.*, 1998) y con una gran cantidad de razas, muchas de ellas semidomesticadas y abundancia de parientes silvestres (Hernández, 1985; Rzedowski, 1995). Una de las familias botánicas importantes en las culturas Mesoamericanas por la diversidad de especies integradas a la dieta y medicina es la Cucurbitaceae (Ortega-Paczka *et al.*, 1998). Ésta, es uno de los grupos de plantas que presentan numerosos productos del metabolismo secundario, útiles como agentes terapéuticos (Zocher *et al.*, 1998), mismos que han sido usados en diferentes aspectos de la salud humana. La mayoría de éstos, se caracterizan por su sabor amargo, por lo que constituye una barrera alimentaria natural contra el ataque de insectos, hongos, bacterias y virus.

Con relación a especies neotropicales de la familia Cucurbitaceae en México, sobresale *Sechium edule* (Jacq.) Sw, comúnmente llamado “chayote”, originaria de Mesoamérica, con México como uno de los centros de mayor diversidad biológica (Newstrom, 1991; Ortega-Paczka *et al.*, 1998). *S. edule*, ha sido estudiada desde diversos puntos de vista; Lira-Saade (1996) realizó una recopilación en donde se describe la taxonomía, origen, usos, ecología, características biológicas y agronómicas, áreas de producción y consumo. También existen

diversos estudios enfocados a la calidad alimenticia, fisiología del cultivo, propagación vegetativa, citogenética, producción y procedimientos postcosecha (Engels, 1983; Flores, 1989; Aung *et al.*, 1992; De Donato y Cequea, 1994; Abdelnour *et al.*, 2002; Cadena-Iñiguez, 2005; Cadena-Iñiguez *et al.*, 2006). Recientemente se han incrementado las contribuciones al conocimiento de esta especie con la caracterización morfoestructural, fisiológica, química y genética de diferentes variedades (Cadena-Iñiguez, 2005; Cadena-Iñiguez *et al.*, 2007a; 2007b).

## 2.1 Descripción botánica de la especie

*S. edule* es una especie perenne, con raíces tuberosas (Figura 1a); tallos ligeramente comprimidos y longitudinalmente surcados (5 a 10), verdes cuando jóvenes y pardos después de cierto tiempo, ramificados y con extensión de hasta 15 m; presenta zarcillos 3-5 ramificados (Figura 1b) y en cada nudo una hoja. Hojas alternas, simples, cordiformes, deltadas, palmadolobuladas, anguladas, sectadas o tripartidas; ápice de los lóbulos agudo o acuminado; base profundamente cordada (Figura 2); ápice de la lámina ligeramente dentado, coriáceo, áspero; superficie foliar pubescente, escabrosa, con tricomas multicelulares clavados, multicelulares cónicos de base multicelular y multicelulares lineares. Venación abierta actinódroma, perfecta, reticulada, basal, con 5-7 venas mayores (Figura 1c); pecíolo suculento, angular o terete, longitudinalmente surcado, de color blanquecino o verdoso, pubescente, encorvado en la base, con 5 a 20 cm de longitud (Figura 1d). Especie monoica con racimos axilares de pedúnculo largo o en panícula de ramas pequeñas, con flores estaminadas (Figura 3.a) diferenciadas junto con una o dos flores pistiladas (Figura 3.b) en la misma axila; flores de  $\pm 1,5$  cm de tamaño, de color



cremoso a verduoso. Fruto indehisciente de forma variable, de 10 a 20 cm de largo, penduloso, grande, ovoide o piriforme, con un variable número de depresiones longitudinales, con epidermis de color blanco a verde claro u oscuro, lisa o corrugada, con o sin espinas. Internamente, el pericarpio es de color verde claro y encierra una sola semilla ubicada centralmente hacia el extremo distal del fruto (Figura 1.e y 1.f).

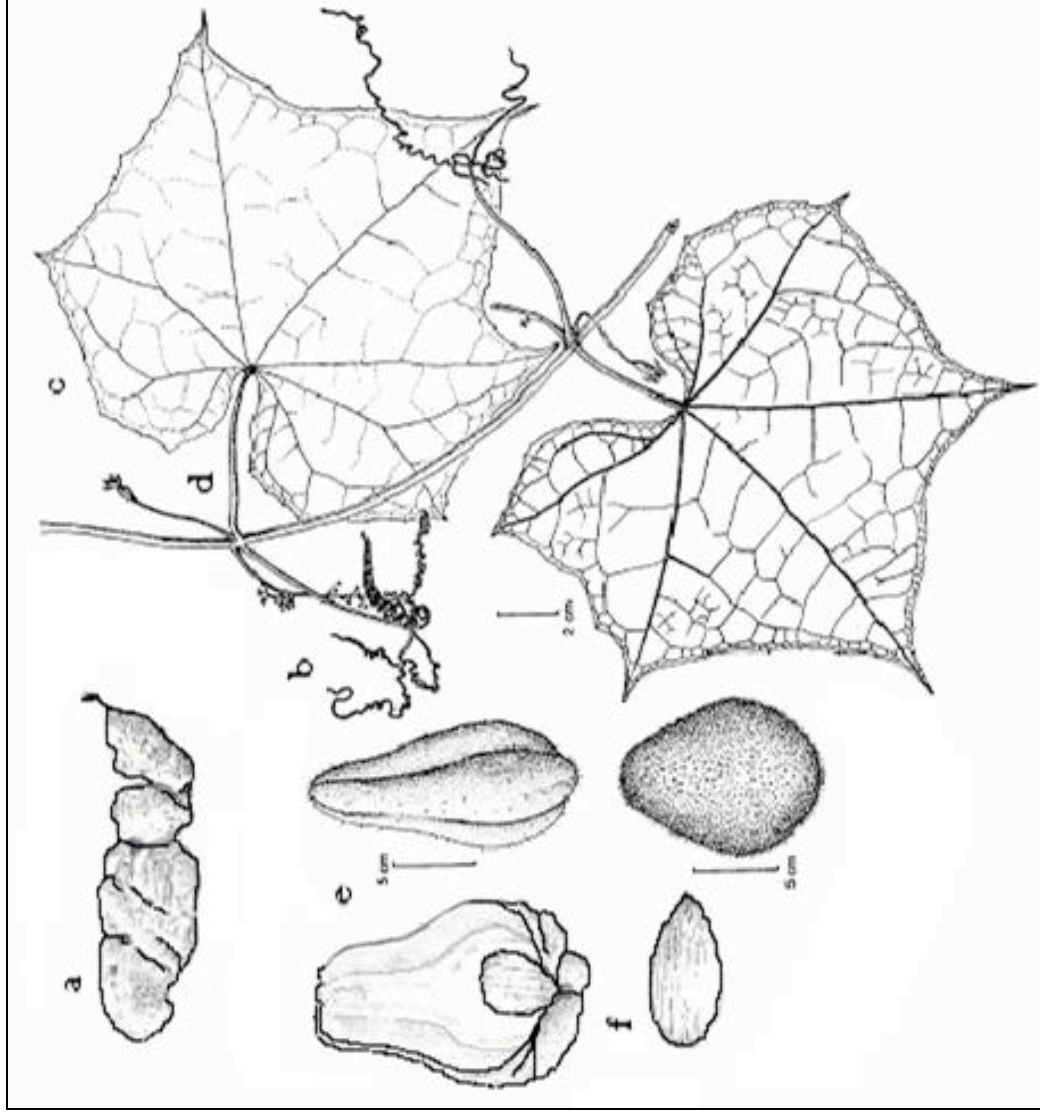


Figura 1. Morfología de *Sechium edule*, a: raíz tuberosa, b: zarcillos, c: venación actinódroma, d: pecíolo, e y f: fruto con una sola semilla (modificado de Lira-Saade, 1996)

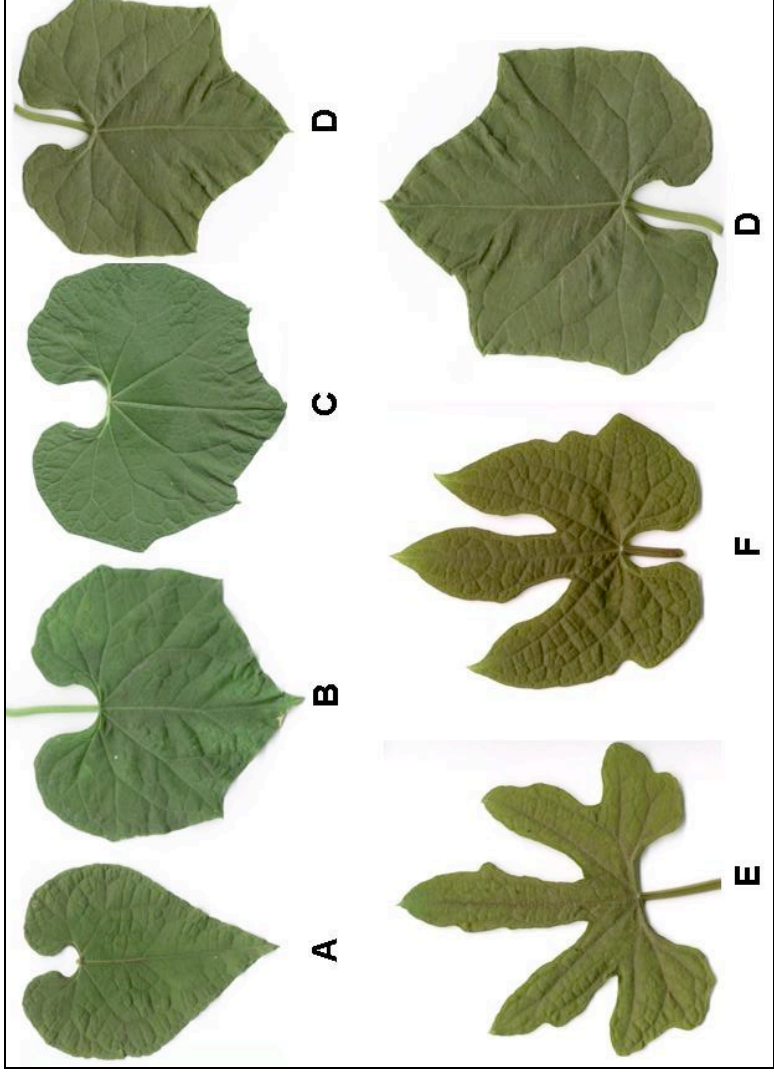


Figura 2. Polimorfismo foliar de ocho variedades de *Sechium edule*. A: cordiforme, B: deltada, C: palmolobulada, D: angulada, E: sectada, F: tripartida (Cadena-Íñiguez, 2005).

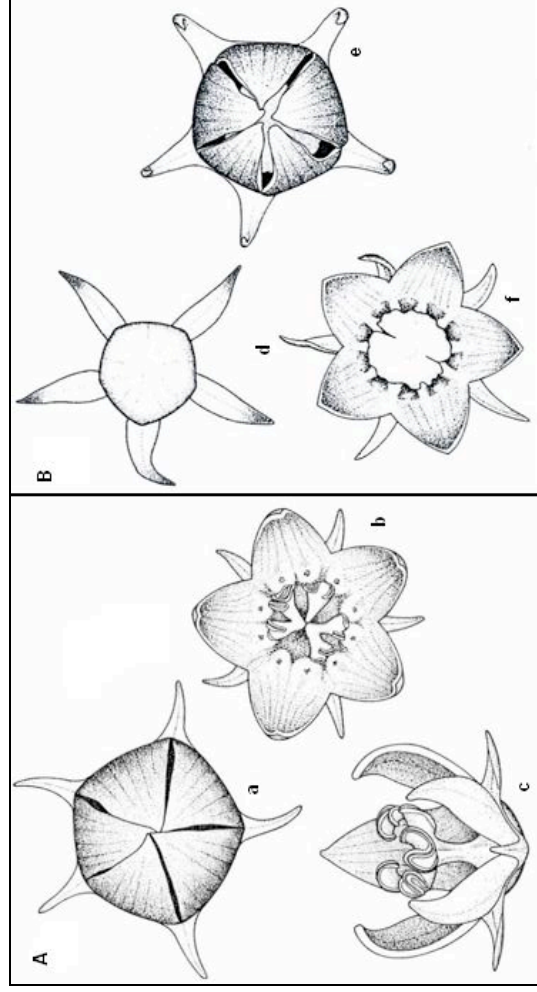


Figura 3. A flor estaminada (a) botón floral, (b) antesis, (c) vista lateral; B flor postilada (d) (e) botón floral, (f) antesis (Flores 1989).

### 2.1.1 Variación infraespecífica

Durante muchos años se asumió que *Sechium* era un género monotípico, cuya única especie era *S. edule* Swartz. Recientemente se acepta que dentro del género hay diez especies, ocho silvestres (*S. chinantlense*, *S. compositum*, *S. hintonii*, *S. talamancense*, *S. panamense*, *S. pittieri*, *S. venosum* y *S. vilosum*) y dos cultivadas (*S. tacaco* y *S. edule*) con distribución desde México hasta Panamá (Lira-Saade, 1996; Cross, 2003).

Una característica importante en *S. edule* es su amplia variación con respecto a forma y color del fruto, muchos de ellos sólo son conocidos en mercados locales. La importancia económica de cada tipo del chayote se basa principalmente en preferencia local, lo que ha permitido mantener su identidad fenotípica y nomenclatura etnobotánica. Ésta, clasifica a los chayotes por su color, como “negro” los de epidermis verde oscuro, “verde” los verde claro y “blanco” los de epidermis crema-amarillo; por su aspecto (liso o espinoso) y por su sabor (neuro, ligeramente dulce y amargo) (Cadena-Iñiguez, 2005). Recientemente, Cadena-Iñiguez *et al.* (2007b) propusieron un arreglo del complejo infraespecífico de *S. edule* bajo el sistema de clasificación en diez grupos varietales (Figura 4), tomando como base principal un análisis morfoestructural, bioquímico, fisiológico y genético, de esta manera facilitó la identidad de los tipos biológicos. Posteriormente se demostró que las diferencias morfoanatómicas y bioquímicas de las variedades están relacionadas con la adaptación a los ambientes en donde se desarrollan (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2007a; 2007b).

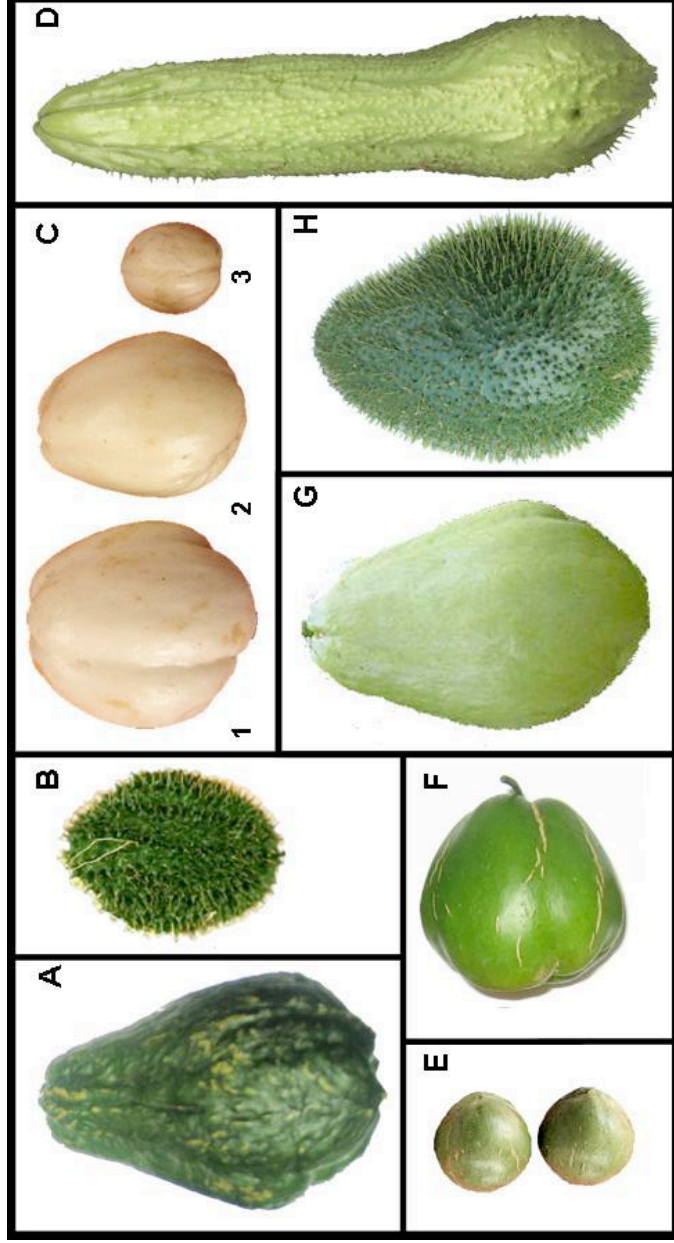


Figura 4. Variedades Botánicas de *Sechium edule* (Jacq.) Sw. (A) *nigrum xalapensis* (negro xalapa), (B) *amarus silvestris* (amargo silvestre), (C1) *albus levis* (amarillo liso), (C2) *albus dulcis* (cambray), (C3) *albus minor* (castilla blanco), (D) *nigrum maxima* (caldero), (E) *nigrum minor* (castilla verde), (F) *nigrum levis* (castilla negro), (G) *virens levis* (verde liso), (H) *nigrum spinosum* (verde espinoso) (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2007a).

## 2.2 Distribución

*S. edule* se distribuye en regiones subtropicales y tropicales, concentrada en áreas elevadas (500-1500 msnm), con régimen de lluvias anual de más de 2000 mm y temperatura de 20-25 °C. Requiere humedad ambiental alta (80-85 %), suelos ácidos (pH 4.5-5.5), bien drenados y ricos en humus. No soporta heladas, pero algunos cultivares se adaptan a zonas muy bajas y temperaturas altas, aunque el fruto es de calidad inferior (Flores, 1989).

Actualmente el chayote se distribuye prácticamente en los cinco continentes, ya que en los últimos 20 años ésta especie ha prosperado comercialmente de hortaliza de traspatio a producto no tradicional de exportación (Flores, 1989; Cadena-Iñiguez *et al.*, 2001). La globalización de los mercados ha incrementado su demanda de consumo, aunque su mercado principal es en Estados Unidos y Canadá por los llamados mercados étnicos (Bancomext, 1999; Cadena-Iñiguez *et al.*, 2001). En la actualidad, la comercialización a gran escala tanto nacional como internacional recae en el tipo biológico “verde liso”.

Los principales países productores de chayote, además de México son: Costa Rica, Guatemala, Brasil, Estados Unidos de América, Argelia, India, Nueva Zelanda y Australia (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2001). En México, nueve Estados tienen una producción importante, donde sobresalen Jalisco, Michoacán y Veracruz, (Dzib *et al.*, 1993, Bancomext, 1999). En este último la producción para exportación representa el 87 % del total nacional y las áreas de cultivo han alcanzado hasta 2 500 hectáreas (Bancomext, 1999), en tres regiones principales: la zona del bosque mesófilo de montaña, el centro del Estado y áreas de vegetación de selva mediana perennifolia y selva baja caducifolia (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2001).

### 2.3 Uso medicinal y alimenticio

El chayote es una especie importante desde el punto de vista cultural y económico desde la época prehispánica (Lira-Saade y Caballero, 2002). Se considera que el chayote tiene un rol importante en la dieta de los habitantes de América Central debido a su uso generalizado en la alimentación humana, pues se consumen las raíces, brotes, semillas y frutos. Los tallos

tiernos o “quelites” se usan en guisos y sopas; sus raíces tuberosas se preparan en sopas, dulces, tortas y son una fuente de almidón; las semillas se tuestan o se confitan; los frutos se consumen hervidos, fritos, rellenos, cocidos al vapor o en horno y presentan un delicado sabor que es muy apreciado en los países productores, además se emplean como pasta en la fabricación de salsas de tomate, alimentos para niños y pasteles, en sustitución de peras o manzanas (Flores, 1989).

Con respecto a los valores nutrimentales del chayote, Engels (1983) señaló los principales componentes en fruto, brotes y raíz (Cuadro 1). Flick *et al.* (1978) indicaron el contenido del aminoácido esencial metionina en la semilla y agregaron que la concentración total de aminoácidos es mayor en ésta estructura que en el resto del fruto. Al respecto, Flores (1989) reportó la presencia de los aminoácidos lisina, cisteína, valina, isoleucina, leucina, fenilalanina, treonina, histidina, arginina, ácido aspártico, serina, ácido glutámico, prolina, glicina, tirosina y alanina; en frutos y semillas de chayote, por lo que es un componente notable de las dietas hospitalarias.

Recientemente, Jiménez-Hernández *et al.* (2007) estudiaron la composición química, física y microscópica del almidón de la raíz tuberosa del chayote, en donde concluyeron que el contenido de éste es similar al de papa (*Solanum tuberosum* var. *alpha* L.) y maíz (*Zea mays* L.), además, tiene un alto grado de pureza (98 %), por lo cual se podría emplear en la industria cosmética, alimenticia, entre otras. Adicionalmente, reportaron el contenido de carbohidratos en la raíz, con valores de alrededor de 85 g·100 g<sup>-1</sup>.



Cuadro 1. Composición nutritiva de 100g de órganos de chayote (Engels, 1983)

Compuesto	Fruto	Brotes	Raíz
Agua (%)	90.8	89.7	79.7
Carbohidratos (g)	7.7	4.7	17.8
Proteína (g)	0.9	4	2
Lípidos (g)	0.2	0.4	0.2
Calcio (mg)	12	58	7
Fósforo (mg)	30	108	34
Hierro (mg)	0.6	2.5	0.8
Vitamina A (UI)	5	615	—
Tiamina (mg)	0.03	0.08	0.5
Riboflavina (mg)	0.04	0.18	0.03
Niacina (mg)	0.4	1.1	0.9
Acido ascórbico (mg)	20	16	19
Valor energético (cal)	31	60	79

Por su parte Modgil *et al.*, 2004 cuantificaron el contenido de carbohidratos y minerales del fruto, en donde sobresalieron las cantidades de fibra neutra detergente y fibra ácida detergente (24.19 y 16.65 g·100g<sup>-1</sup> de peso seco, respectivamente) y el alto contenido de calcio, fósforo, potasio y magnesio (344, 259, 3378.67 y 147 mg·100g<sup>-1</sup> de peso seco, respectivamente). Modgil y Modgil (2004) refirieron que la incorporación del chayote a la dieta de ratas produce pérdida de peso, debido al decremento en la relación de eficiencia proteínica (PER), digestibilidad de materia seca (DMD), digestibilidad neta de proteína

(TPD), utilización neta de proteína (NPU), eficiencia de retención proteica (PRE), relacionadas con la reducción de los niveles de colesterol; sin embargo puede afectar negativamente a la utilización biológica de la dieta.

Además de su importancia como alimento, el chayote se emplea en la medicina tradicional como diurético; para aliviar las calcificaciones renales, arteriosclerosis, cauterizar heridas, contra inflamaciones intestinales y cutáneas (Flores, 1989; Ribeiro *et al.*, 1988). Las hojas y frutos tienen propiedades cardiovasculares y antiinflamatorias (Lozoya, 1980; Bueno *et al.*, 1970).

#### 2.4 Análisis fitoquímicos y Estudios farmacológicos

Se ha corroborado el fuerte efecto diurético de la especie (Melita-Rodríguez *et al.*, 1984). Jensen y Lai (1986) documentaron un caso severo de hipocalcemia en el embarazo, provocada por decremento en los niveles de potasio ( $17 \text{ mEq}\cdot\text{L}^{-1}$ ) y aumento de creatina fosfoquinasa (CPK,  $4\ 450 \text{ mU}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), debido a la ingestión de una preparación de chayote. Los niveles del mineral regresaron a la normalidad, sin recurrencia del padecimiento, una vez que la ingestión fue detenida.

Salama *et al.* (1986) reportaron la presencia de alcaloides no fenólicos, saponinas, esteroides y triterpenos, en frutos de chayote; además de las actividades antiinflamatoria y cardiotónica del extracto metanólico y de las fracciones etérea, clorofórmica y metanólica.



Posteriormente aislaron e identificaron, los glicósidos antiinflamatorios  $\beta$ -sitosterol- $\beta$ -D-glucopiranosido y estigmasterol- $\beta$ -D-glucopiranosido (Salama *et al.*, 1987a; 1987b).

MacLeod (1990) aisló del fruto, alrededor de 61 componentes volátiles, en donde los más importantes eran el ácido octadeca-9,12 dienoico, docosano, octa-1-en-3-ol y (*Z*) hex-3-en-1-ol, los dos últimos contribuyen al olor característico de la fruta verde. Por su parte Wu *et al.* (1998) caracterizaron a la proteína *sechiumina* del extracto acuoso de la semilla, la cual tiene propiedades de inactivación ribosomal y es un posible agente quimioterapéutico.

También se reportó la propiedad antibacteriana de los extractos etanólicos del chayote, los cuales, en todas las concentraciones probadas, mostraron actividad contra las bacterias gram-positivas: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, entre otras. Sin embargo, el mejor efecto se obtuvo con extracto de hoja al 80 % y extracto de semilla al 96 % (Ordoñez *et al.*, 2003).

Gordon *et al.* (2000) señalaron el efecto antihipertensivo en ratas por el descenso en la presión arterial media (PAM), provocado por la ingestión de extractos acuosos del fruto de dos subespecies de *S. edule*. Siciliano *et al.* (2004) aislaron y purificaron los flavonoides vicenina-2, vitexina, luteonina 7-*O*-rutinosido, luteolina 7-*O*-  $\beta$ -D-glucopiranosido, apigenina 7-*O*-rutinosido, crisoeriol- 7-*O*-rutinosido, diosmetina 7-*O*-rutinosido y apigenina 6-*C*- $\beta$ -D-glucopiranosil-8-*C*-  $\beta$ -D-apiofuranosido, acumulados en mayor cantidad en las hojas.

Ordoñez *et al.* (2006) evaluaron, por medio de tres métodos *in vitro*, la actividad antioxidante de los extractos metanólico y acuoso de los órganos de *S. edule*. Demostraron que el extracto etanólico de hojas y los acuosos de hojas y semillas tuvieron una fuerte actividad inhibitoria de la decoloración del  $\beta$ -caroteno y determinaron que poseen la capacidad de donación de hidrógeno en presencia de radicales DDPH y un fuerte poder reductor por el método de reducción de ferrocianuro de potasio. Adicionalmente reportaron una relación proporcional de los mayores contenidos de compuestos polifenólicos y flavonoides totales con la actividad antioxidante.

Por otro lado, en un análisis cualitativo *in vivo* se demostró que los extractos de chayote fueron capaces de alterar la forma de los glóbulos rojos y la biodistribución del radiofármaco pertechnetato sódico ( $^{99m}\text{TcO}_4\text{Na}$ ) en elementos sanguíneos (Diré *et al.*, 2001). Posteriormente, Diré *et al.* (2002) evaluaron la influencia de los extractos de chayote (macerados y en infusión) en el marcaje de elementos sanguíneos con  $^{99m}\text{Tc}$  (Tecnecio  $^{99m}$ ). En el estudio *in vivo* se reportó un decremento en la radioactividad de las células sanguíneas, la fracción insoluble de las mismas y la fracción insoluble del plasma con ambos extractos; en el estudio *in vitro* no hubo cambios en el radio marcaje. Adicionalmente, se sugirió que la capacidad, de los extractos de chayote, para alterar el radio marcaje de elementos sanguíneos, se debe a la metabolización de éste, lo que puede inducir la generación de metabolitos activos oxidantes.

Posteriormente, se comprobó que los extractos de chayote carecen de compuestos tóxicos como metales pesados y se determinó, en un estudio *in vitro*, que hubo un incremento en el marcaje de las células sanguíneas con  $^{99m}\text{Tc}$  y  $\text{SnCl}_2$ , cuando se aplicaron extractos

decocidos y macerados de chayote. En el estudio *in vivo* se detectaron alteraciones en el porcentaje de radioactividad por gramo (% ATI·g<sup>-1</sup>) en la tiroides, pulmón, estómago y sangre de ratas tratadas. Además reportaron alteraciones en la morfología de los glóbulos rojos. Finalmente sugirieron que los extractos administrados *in vivo* se metabolizan en el hígado y pueden inducir la generación de metabolitos con propiedades oxidantes capaces de alterar la biodistribución de <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub>Na (Diré *et al.*, 2003a; 2003b; 2004a). Posteriormente, se demostró que el marcaje con Tc 99m de los glóbulos rojos y la fracción insoluble del plasma, se ve disminuida con el extracto acuoso macerado de chayote, no así, para las proteínas plasmáticas. En la bioquímica de la sangre, de animales tratados con dicho extracto, se presentó disminución significativa en el nivel de glucosa y globulina y decremento en la presión diastólica. Además, se observaron lesiones en la molécula pUC. 9.1 de ADN plasmídico provocadas por los extractos macerados y decocidos de chayote en todas las concentraciones probadas, en presencia y ausencia de SnCl<sub>2</sub> (Diré *et al.*, 2004b; 2004c; 2007a). Diré *et al.* (2005a; 2005b; 2006a; 2006b; 2007b; 2007c; 2007d) evaluaron el efecto del chayote en el radio marcaje de la sangre de ratas diabéticas, en donde observaron una disminución en el porcentaje de radioactividad (% ATI) en la fracción insoluble (FI) de células sanguíneas de animales sanos tratados con extracto; FI del plasma y de células sanguíneas de diabéticos; células sanguíneas y FI del plasma y de células sanguíneas del grupo de diabéticos tratados con extracto. Concluyeron que el extracto de chayote tuvo una acción oxidante, por lo que sugirieron que éste puede inducir la generación de metabolitos con acción sobre el proceso de marcaje, probablemente actuando en la membrana celular y los sitios de unión de proteínas, debido al estrés oxidativo ocurrido en la diabetes. Recientemente, Diré *et al.* (2007e) evaluaron el efecto de protección inducido por el extracto de chayote, sobre una cepa silvestre de *Escherichia coli*

(AB1157) por medio de la inactivación del SnCl<sub>2</sub>, acción atribuible a los agentes oxidantes del extracto que actúan en contra de los iones de estaño y evitan la generación de especies activas de oxígeno, las cuales pueden inducir lesiones en la molécula de ADN.

Por otro lado, Cadena-Iñiguez (2005) indicó parte de la variación química de ocho variedades de *S. edule*, cuantificando sólidos solubles totales (SST), ácido ascórbico y cucurbitacinas (Cuadro 2). Estas últimas se encuentran en concentraciones 100 veces menores en el grupo de frutos amarillos respecto del silvestre, 10 veces más bajas en los chayotes cultivados de frutos verdes respecto también de la variedad silvestre.

Cuadro 2. Contenido relativo de cucurbitacinas, SST y ácido ascórbico en ocho variedades de *Sechium edule* (Cadena-Iñiguez, 2005)

Variedad botánica	Cucurbitacinas g·100g <sup>-1</sup>	SST °Brix	Ácido ascórbico
<i>virens levis</i>	0.0116	5.14 ± 0.2	6.76 ± 0.16
<i>nigrum xalapensis</i>	0.0195	4.93 ± 0.02	6.53 ± 0.53
<i>nigrum spinosum</i>	0.0190	6.43 ± 0.3	4.95 ± 0.49
<i>nigrum levis</i>	0.0660	5.47 ± 0.2	6.65 ± 0.18
<i>amarus silvestryis</i>	0.1456	10.92 ± 0.3	3.99 ± 0.16
<i>albus minor</i>	0.0039	7.66 ± 0.7	7.82 ± 0.42
<i>albus dulcis</i>	0.0027	7.21 ± 0.9	7.42 ± 1.27
<i>albus levis</i>	0.0088	8.08 ± 0.6	7.75 ± 0.22

Cadena-Iñiguez *et al.* (2005) reportaron la propiedad antiproliferativa de los extractos crudos de cinco variedades de chayote sobre las líneas celulares tumorales L-929 (fibrosarcoma de pulmón de ratón) y P-388 (leucemia linfocítica de ratón), en donde concluyeron que los extractos de las variedades botánicas *amarus silvestris* y *nigrum spinosum* tuvieron un mejor efecto, de tipo dosis dependiente. Adicionalmente, Cadena-Iñiguez *et al.* (2007a), demostraron que los extractos alcohólicos de los frutos de *S. edule*, de las variedades botánicas *amarus silvestris*, *nigrum spinosum*, *nigrum xalapensis*, *albus dulcis* y *albus levis* presentan actividad citotóxica en la proliferación de las líneas celulares L-929 y P-388 y que el extracto de *nigrum levis* no inhibe la proliferación. Con respecto a la línea celular HeLa (cáncer cérvico uterino humano) concluyeron que el extracto metanólico de *S. edule* var. *n. spinosum* tiene actividad citotóxica a dosis bajas.

## 2.5 Estrategias para la búsqueda de principios activos, un enfoque biodirigido

El reino vegetal representa un extraordinario reservorio de nuevas moléculas, puesto que las plantas pueden contener centenares de metabolitos, hay un gran interés en ellas como fuente posible de nuevos compuestos para su introducción en programas de investigación terapéuticos (Hostettmann *et al.*, 1995). Sin embargo, económicamente no es práctico emplear los recursos en una planta o plantas de una sola localidad. Por ello, se reconocen cinco estrategias para la selección de especies que puedan llevar al descubrimiento de nuevos agentes activos: al azar, por interés taxonómico, con información quimiotaconómica, el enfoque etnomédico y el biodirigido. El procedimiento más racional es someter al material a un bioensayo, para observar una respuesta particular; así los compuestos pueden ser agrupados en un orden de prioridad y los más promisorios dirigen

los procedimientos subsecuentes de purificación para el aislamiento de los principios activos. Una vez que las plantas son identificadas, recolectadas y procesadas, es necesario demostrar la capacidad del extracto para mediar respuestas biológicas consistentes con el efecto terapéutico de interés (Cordell *et al.*, 1993; Pezzuto, 1997).

En estudios biodireccionados, la extracción debe considerarse bajo una variedad de condiciones, siempre y cuando sea monitoreado bajo el esquema más apropiado. En primera instancia se determina la actividad biológica de un extracto, pero hay varios criterios que debe cumplir el bioensayo para considerarlo útil para direccionar el fraccionamiento; debe ser rápido, confiable, sensible, capaz de identificar un espectro de actividades, económico y reproducible. También debe considerarse factores como la solubilidad diferencial del extracto crudo, especialmente cuando éste no es soluble en agua, en cuyo caso puede utilizarse disolventes como metanol o dimetilsulfóxido (DMSO); además de la presencia de grandes cantidades de sustancias que pueden interferir con el ensayo o enmascarar los efectos biológicos de las pequeñas cantidades de un principio activo (Colegate y Molyneux, 1993). Una vez superadas estas dificultades, se toma la decisión estratégica para perseguir el fraccionamiento del mismo. En éstos estudios, cada fracción del extracto se ensaya biológicamente antes de aislar y caracterizar componente alguno (Ghisalberti, 1993). Así, sólo las fracciones que muestran actividad son estudiadas después, para aislar los componentes activos, los cuales pueden no estar tradicionalmente relacionados con determinada familia botánica. La determinación de la actividad antitumoral de las fracciones se realiza frecuentemente mediante ensayos de citotoxicidad *in vitro*, el cual puede ser usado como monitor en el proceso de aislamiento y purificación (Dewick, 1991). El monitoreo de las fracciones aisladas debe realizarse con los mismos

sistemas biológicos usados para la determinación de la actividad del extracto original. En cada paso del fraccionamiento del extracto y de las fracciones derivadas, se debe sujetar a la prueba biológica, para asegurar que todo esfuerzo se orienta hacia los compuestos activos, así, sólo las fracciones activas se estudian en la siguiente fase del proceso de separación. Los ensayos de citotoxicidad *in vitro* no siempre representan un medio eficaz o relacionable de predicción de la actividad antitumoral *in vivo*; pese a ello, como el bioensayo es rápido y requiere de tan sólo pequeñas cantidades del extracto, constituye un método eficiente de evaluación inicial (Cordell *et al.*, 1993).

El fraccionamiento puede realizarse por cromatografía en columna, seguido de otras técnicas de separación, dicho proceso es complicado por no conocerse la naturaleza química de los principios activos y porque a menudo, las plantas sintetizan sustancias estrechamente relacionadas de difícil separación. La estructura química de los compuestos activos debe determinarse, este proceso lleva a la acumulación de datos espectroscópicos, de numerosas fuentes, tales como Infra Rojo, UV, Resonancia Magnética Nuclear (de hidrógeno y carbono), además de Espectrometría de Masas, además de argumentos fitoquímicos y biosintéticos (Dewick, 1991; Colegate y Molyneux, 1993).

Los rápidos progresos en el ámbito de metabolitos bioactivos se debe en gran parte a la utilización del enfoque biodirigido. Con este método la mayoría de las sustancias aisladas tienen actividad en un bioensayo o un conjunto de bioensayos; sin embargo hay factores que pueden complicar la utilización de dicho enfoque; el más obvio es que la solubilidad de los extractos o fracciones puede ser limitada, por ello la selección de disolvente es crucial en un bioensayo. Otro factor no tan evidente puede deberse a un evento o una combinación

de eventos, como efectos sinérgicos y químicos durante la extracción o la manipulación de los extractos, que llevan a la pérdida de la actividad del extracto o las fracciones del mismo (Ghisalberti, 1993).

Debido a su eficiencia, el enfoque biodirigido es ampliamente utilizado, ya sea en la búsqueda de componentes tóxicos de plantas forrajeras (Allen *et al.*, 2006), de compuestos con actividad vasorelajante (Othman *et al.*, 2006), antihipertéticos, analgésicos (Delporte *et al.*, 2002), antiinflamatorios (Li *et al.*, 2002), entre otros. Además, dicho enfoque es una herramienta útil en la determinación de propiedades antiproliferativas y citotóxicas de algunas especies vegetales, éstas poseen compuestos como lignanos (Wu y Wu, 2006), ácidos fenólicos (Tian *et al.*, 2007) o terpenos (Meng *et al.*, 2007; Fujioaka, 2006; Lee *et al.*, 2007), entre ellos las cucurbitacinas (Jayaprakasam *et al.*, 2003).

## 2.6 Cáncer

Las definiciones del cáncer subrayan el crecimiento excesivo, no regulable y autónomo de las células con respecto a los estímulos reguladores normales. (Pardee, 1988; De Vita, 1993; Maleipaard, 1996; Coleman y Tsongalis, 2002). Estas visiones, consideran al cáncer como una enfermedad histórica, integrada por células que han perdido respuesta a los mecanismos de control; es decir alteraciones de los genes responsables de la replicación y la reparación del ADN.

Las características normales de una célula y sus modelos de crecimiento están determinados genéticamente y por el ambiente previo y presente. Así, al considerar la naturaleza básica



de la neoplasia se debe tomar en cuenta si existe una pérdida parcial o completa de los mecanismos de control de crecimiento. Otra característica de la célula cancerosa es la pérdida de las propiedades normales de diferenciación en diversos grados, que incluyen cambios en las estructuras cromosómicas y de las propiedades bioquímicas, pérdida del control posicional, que conlleva a la metástasis (Pardee, 1988; Peralta-Zaragoza *et al.*, 1997).

El cáncer es generado a partir de una célula diferenciada por alteraciones en los genes que controlan el crecimiento y la muerte normal de las células. Los agentes causales pueden ser exógenos como la mala alimentación, nivel socio-económico, estilo de vida (Willett, 1997; OMS, 2006), agentes químicos, físicos y biológicos (invasión de bacterias o virus); o bien, factores endógenos como daño en el sistema inmune, inflamación crónica, desequilibrio endócrino, la edad y condición fisiológica del individuo. Aunque también puede contribuir la acumulación de mutaciones preexistentes, debido a que durante la división celular, se producen errores genéticos espontáneos, con una frecuencia de alrededor de  $10^{-5}$  a  $10^{-6}$ . Si el daño alcanza un gen responsable de desarrollo neoplásico entonces la probabilidad de desarrollar cáncer será mayor (Oliveira *et al.*, 2007). Por el contrario, las células normales de los tejidos proliferan hasta alcanzar y mantener un tamaño de población que es fisiológicamente útil.

La carcinogénesis o formación del cáncer se inicia con la transformación de la célula normal a neoplásica; progresando con hiperproliferación, pérdida de diferenciación celular; y adquisición de potencial invasivo, generando su propio sistema de soporte en la angiogénesis y estableciendo lesiones metastásicas en tejidos y órganos que no están

relacionados con la neoplasia primaria (Figura 5). La patogénesis neoplásica es un proceso complejo que puede dividirse en tres etapas: iniciación, promoción y progresión (Dorai y Aggarwal, 2004; Sun *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2007).

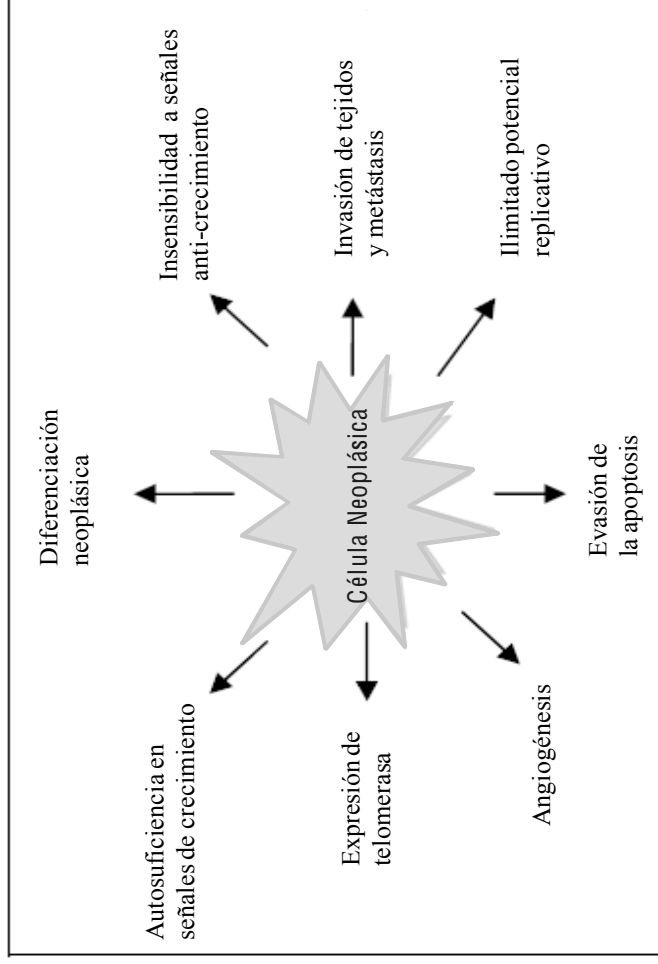


Figura 5. Características de una célula maligna (Oliveira *et al.*, 2007).

La iniciación es un proceso irreversible, ocurrido cuando los genes de una célula normal son alterados a través de mecanismos genéticos, predisponiéndola a evolucionar hacia una célula maligna con inmortalidad. Una vez que la célula ha sufrido alteraciones genéticas, se pueden activar o no los eventos destinados a preservar la normalidad celular:

- ☞ Mecanismos reparadores, producto de genes que cesan los errores genéticos y los reparan para que no sean heredados a células hijas.
- ☞ Permitir la apoptosis o muerte celular programada, excluyendo a las células que acumularon muchas mutaciones.

Si la célula evade estos mecanismos, entra a la fase reversible de promoción, en donde amplía las mutaciones que causan cambios en el control del crecimiento celular, confiriendo proliferación anormal a células iniciadoras y con ello el desarrollo de lesiones preneoplásicas por la carencia de agentes supresores. La inestabilidad entre el crecimiento y la muerte celular pueden llevar a la aparición de una neoplasia maligna. Por último, en la fase de progresión, se adquiere un fenotipo neoplásico a través de mecanismos genéticos o epigenéticos adicionales y los nuevos clones poseen una mayor capacidad de proliferación independiente de los estímulos. La progresión neoplásica se caracteriza por irreversibilidad, inestabilidad genética, invasión, cambios bioquímicos, metabólicos y morfológicos, metástasis y angiogénesis (Trosko, 2003; Sun *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2007).

El cáncer no es una enfermedad única sino un conjunto de enfermedades que se clasifican en función del tejido y célula de origen. Así los principales subtipos son:

- ☞ Sarcomas, procedentes de tejido conectivo como huesos, cartílagos, nervios, vasos sanguíneos, músculos y tejido adiposo.
- ☞ Carcinomas, originados en tejidos epiteliales como la piel o los epitelios que tapizan las cavidades y órganos corporales, y de tejidos glandulares como mama y próstata.
- Los carcinomas de estructura similar a la piel se denominan carcinomas de células escamosas. Los que tienen una estructura glandular se denominan adenocarcinomas.
- ☞ Por otro lado, las leucemias y los linfomas incluyen los cánceres de los tejidos formadores de las células sanguíneas. Producen inflamación de los ganglios linfáticos, invasión del bazo y médula ósea, y sobreproducción de células blancas inmaduras.

Las principales formas de tratamiento del cáncer son: cirugía, radioterapia, quimioterapia, terapia hormonal y terapia biológica; puede usarse un método o una combinación de ellos, dependiendo del tipo, ubicación y extensión del cáncer; la edad y salud general del paciente. Puesto que el tratamiento puede dañar también células y tejidos sanos, con frecuencia causa efectos secundarios. La cirugía es un procedimiento para extirpar el cáncer. Los efectos secundarios de ésta dependen de factores como el tamaño, lugar del tumor, tipo de operación, entre otros; aunque es común que cause cansancio, debilitamiento y dolor. La radioterapia usa rayos de alta energía para destruir las células cancerosas en un área determinada, puede administrarse en forma externa por medio de radiación hacia un área del tumor; o internamente mediante agujas o catéteres que contienen una sustancia radioactiva que se implantan cerca del cáncer. Los efectos secundarios son cansancio, disminución del número de glóbulos blancos en la sangre, con abatimiento del sistema inmune, pérdida de pelo, enrojecimiento, resequedad y sensibilidad en la piel. La quimioterapia es el uso de fármacos para destruir células cancerosas en todo el cuerpo. Las células sanas también pueden ser dañadas, especialmente las que se dividen rápidamente, teniendo a la pérdida de pelo y apetito, fatiga, náuseas, vómitos, diarrea, llagas en la boca y labios, como efectos secundarios. La terapia hormonal se usa para tratar cánceres que dependen de hormonas para su crecimiento. Este tratamiento puede incluir el uso de fármacos que detienen la producción de ciertas hormonas o que cambian la forma como funcionan. Los efectos secundarios incluyen cansancio, retención de líquidos, aumento de peso, bochornos, náusea, vómito, cambio de apetito y en algunos casos coágulos de sangre y osteoporosis. La terapia biológica utiliza directa o indirectamente el sistema inmune para combatir la enfermedad y puede aminorar algunos de los efectos secundarios del tratamiento; los cuales varían con el tratamiento específico, pero puede

causar síntomas parecidos a los de la gripe, como escalofríos, fiebre, dolor de músculos, debilidad, pérdida de apetito, náuseas, vómitos y diarrea. Los pacientes pueden también sangrar con facilidad, tener erupciones o inflamación en la piel (INC, 2008).

Si bien, los tratamientos para el cáncer pueden, muchas veces proporcionar una mejoría temporal de los síntomas, la prolongación de la vida y, ocasionalmente, la curación; la Organización Mundial para la Salud (2006), estimó que a nivel mundial, la mortalidad por cáncer aumentará un 45 % entre 2007 y 2030, es decir, pasará de 7.9 millones a 11.5 millones de defunciones (considerando el crecimiento demográfico y el envejecimiento poblacional); además, durante el mismo periodo, el número de casos nuevos aumentará de 11.3 a 15.5 millones. En este contexto, prevalece el interés en los productos naturales, debido a que pueden proveer nuevos agentes con potencial quimioterapéutico (Dewick, 1991).

Adicionalmente, existe el concepto de quimioprevención de la carcinogénesis, que por definición es el uso de agentes para frenar la progresión, revertir o inhibir la carcinogénesis; implicando estrategias antiiniciación, como la reparación ADN y detoxificación; antipromoción con mecanismos antioxidantes y antiinflamatorios; y antiprogresión o inhibición de la proliferación celular por inducción a la diferenciación celular y a la apoptosis, además de mecanismos antiangiogénesis (Trosko, 2003). En este contexto, se ha revelado que el consumo regular de ciertas frutas y verduras puede reducir el riesgo de contraer determinados cánceres. Los fitoquímicos derivados de tales vegetales son denominados agentes quimioprotectores, éstos pueden suprimir la hiperproliferación celular, la transformación, inducir apoptosis, regular el NF-κB (asociado a procesos

infamatorios que inician la carcinogénesis), p-53 (factor de transcripción), AR (receptor de andrógeno), ER (receptor de estrógeno), reprimir la expresión de enzimas anti-apoptóticas, factores de crecimiento, angiogénesis y metástasis, además de tener un impacto mínimo en células sanas. Debido a que los agentes quimiopreventivos se derivan de fuentes naturales, se consideran farmacológicamente seguros y algunos pueden resultar promisorios en el tratamiento del cáncer; es decir, pueden utilizarse no sólo para prevenirlo sino también para tratarlo. Por su seguridad farmacológica, la mayoría de los quimioprotectores pueden combinarse con la quimioterapia para mejorar el efecto a dosis más bajas y minimizar la toxicidad inducida por la misma (Pezzuto, 1997; Dorai y Aggarwal, 2004; Lui, 2004; Sarkar y Li, 2004; Manson *et al.*, 2007). Lo anterior cobra importancia debido a que es necesario luchar contra el cáncer con el arsenal de medicamentos disponibles, incluyendo a los agentes quimioprotectores encontrados en la dieta humana.

### 3. OBJETIVO GENERAL

Realizar un estudio biodirigido con extractos de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum* con el fin de evaluar el efecto sobre la proliferación y citotoxicidad sobre dos líneas tumorales.

#### 3.1 Objetivos particulares

3.1.1. Obtener extractos crudos: acuoso y alcohólicos, de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*.

3.1.2. Evaluar la actividad antiproliferativa y citotóxica de los extractos sobre las líneas tumorales L-929 y HeLa.

3.1.3. Separar el extracto alcohólico y purificar las fracciones con técnicas cromatográficas.

3.1.3. Evaluar la actividad antiproliferativa de las fracciones sobre las líneas tumorales L929 y HeLa.

3.1.4. Evaluar los compuestos de mayor actividad antiproliferativa y determinar su estructura química con técnicas espectroscópicas.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Estudio Fitoquímico

#### 4.1.1 Material vegetal

Se utilizaron frutos de *Sechium edule* (Jacq.) Sw., var. *nigrum spinosum*, provenientes del Banco Nacional de Germoplasma de *S. edule* en México (BANGeSe), GISEM-CRUO-UACH, cuya recolecta original se realizó en 2005 por Cadena-Íñiguez y Avendaño-Arrazate (colecta 300-05-BANGeSe) en el Estado de México. El ejemplar herborizado se depositó en el Herbario Ortorio del Colegio de Postgraduados, Montecillos, Texcoco, México con la accesión No. 300-2005.

#### 4.1.2 Preparación de los extractos

Los frutos fueron cosechados en madurez hortícola (Watada *et al.*, 1984), los cuales se cortaron en trozos pequeños, secados a 50 °C con circulación de aire y macerados para estandarizar el tamaño de partícula.

Para los extractos etanólico y metanólico se empleó 1 Kg de fruto seco, para cada uno. Se realizó una extracción discontinua, consistente en sumergir el macerado en el respectivo disolvente (ACS certificado, Merck) por 48 horas a temperatura ambiente (20 °C ± 2). Los conjuntos se decantaron y filtraron en 12 ocasiones, para el metanólico y siete para el etanólico, renovando el disolvente, hasta agotar los componentes solubles; posteriormente, se evaporó el disolvente a presión reducida (Rotavapor Büchi, R-114, Suiza) a 45 °C, hasta obtener un extracto crudo (Kuklinski, 2000). Para el extracto acuoso se realizó una infusión con 10 g de fruto seco en 100 mL de agua destilada a 90 °C, se agitó con una varilla de vidrio, se dejó reposar por 10 minutos y se filtró. El extracto obtenido se congeló a -4 °C y



se colocó en una liofilizadora (LABCONCO® Corporation 64132, Missouri) equipada con bomba de vacío (LABCONCO® Corporation 117, Missouri) hasta sequedad. El rendimiento de los extractos se calculó respecto del peso seco de la muestra original y 72 mg de cada uno se destinó a la primera fase de la evaluación biológica.

Por otro lado, se realizó Cromatografía en Capa Fina de los extractos crudos, empleando como adsorbente gel de sílice (60 GF<sub>254</sub>, Merck, México), con fase móvil cloroformo-metanol (95:10), se observaron con luz UV a 254 y 365 nm (Cole-Parmer 9818, Chicago) y se revelaron con vainillina-ácido fosfórico a 110°C por 10 min (Halaweish, 1993; Gibbons y Gray, 1998).

#### 4.1.3 Fraccionamiento del extracto metanólico

Se fraccionaron 20 g del extracto crudo por cromatografía en columna (CC) a baja presión (Ghisalberti, 1993; Salituro y Dufresne, 1998), empacada con gel de sílice (60 Merck, México), con fase móvil de hexano-acetato de etilo (10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 1:1) y acetato de etilo-metanol (10:0, 9:1, 8:2). Se recolectaron eluatos de 100 mL cada uno, éstos se monitorearon por cromatografía en capa fina, empleando como adsorbente gel de sílice (60 GF<sub>254</sub>, Merck, México), con fase móvil acetato de etilo-metanol (8:2), se observaron con luz UV a 254 y 365 nm (Cole-Parmer 9818, Chicago) y se revelaron con un agente cromogénico de anisaldehído-ácido acético glacial-metanol-ácido sulfúrico (0.05 mL, 1.0 mL, 8.5 mL y 0.5 mL respectivamente), calentando a 110 °C por 5 min, lo que permitió reunir las fracciones por su identidad cromatográfica (Canell, 1998; Gibbons y Gray, 1998). Algunas fracciones se purificaron mediante las técnicas de cristalización y recristalización (Gilbert y Martin, 1998; Shankland *et al.*, 1998). Adicionalmente, se calculó el rendimiento

de las fracciones principales en relación al peso de la muestra empacada. La selección de las fracciones para los ensayos biológicos, se realizó con base en la coloración de las marcas rojo violeta y café marrón en la placa cromatográfica; relacionadas con compuestos triterpénicos (Che *et al.*, 1985; Wagner y Bladt, 1996; Afifi *et al.*, 1999;); además se consideró la polaridad (baja, media y alta) de las mismas.

## 4.2 Estudio Farmacológico

El bioensayo se realizó en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM; empleando las líneas celulares L-929 y HeLa.

### 4.2.1 Material celular

Las líneas celulares L-929 y HeLa, fueron donadas respectivamente por el M. en C. Luis Sánchez y el Dr. Alberto Monroy de la Unidad de Investigación en Diferenciación Celular y Cáncer de la FES Zaragoza, UNAM. Dichos cultivos celulares se adquirieron inicialmente de ATCC (The American Type Culture Collection): The Global Bioresource Center.

Línea L-929. Corresponde a fibrosarcoma de pulmón de ratón, aisladas por primera vez en marzo de 1948. Son células tumorigénicas fibroblásticas de tejido conectivo subcutáneo, areolar y adiposo.

Línea HeLa. Corresponde a cáncer cérvico uterino humano, aisladas por primera vez en febrero de 1951, de una mujer de raza blanca de 51 años de edad. Son células epiteliales, con nivel de seguridad dos, pues contienen virus de papiloma humano 18.

#### 4.2.2 Evaluación de la actividad antiproliferativa

Las líneas celulares tumorales L-929 y HeLa se mantuvieron como cultivos en monocapa, en IMDM (Iscove's Modified Dulbecco's Medium; Invitrogen, USA) suplementado con 10 % de SFB (Suero Fetal Bovino) desactivado (Invitrogen, USA), a 37 °C en una atmósfera al 5 % de CO<sub>2</sub> y 95 % de humedad en incubadora (Thermo Forma, USA). Para mantener el crecimiento exponencial, las líneas celulares fueron mantenidas como cultivos en monocapa en confluencia final de aproximadamente 70 % y resebradas rutinariamente con ayuda de Verseno cada 48 h, a una densidad de  $1 \times 10^6$  células·mL<sup>-1</sup>.

Los extractos crudos y las fracciones (71.2 mg de cada muestra) se solubilizaron en 40 µL de etanol absoluto (Baker Analyzed, México) y 960 µL de Solución Buffer de Fosfatos (PBS), la mezcla se centrifugó a 500 *xg* durante 5 minutos (Hermle-Labortechnik, Alemania). Los sobrenadantes se filtraron para obtener un stock de 14.24 mg por cada 600 µL de PBS.

Las líneas L-929 y HeLa se resebraron en placas de 96 pozos a una densidad de  $2 \times 10^4$  células·mL<sup>-1</sup> de medio de cultivo, adicionando el extracto o las fracciones en las concentraciones de 0, 0.047, 0.23, 0.47, 1.18, 2.37 mg·mL<sup>-1</sup>, y se co-cultivaron por 72 horas. Posteriormente, las células adheridas al pozo se fijaron con glutaraldehído al 1 % durante una hora, después se adicionó la solución de cristal violeta (Sigma, USA) para colorear el núcleo celular (Kueng *et al.*, 1989). Las placas se agitaron por 10 minutos (Labnet International Inc. Woodbridge, USA) e inmediatamente se retiró el exceso de colorante con agua destilada. Finalmente, se agregaron 50 µL·pozo<sup>-1</sup> de ácido acético al 10 % y se agitó durante 20 minutos para solubilizar el colorante unido a las células. La

densidad óptica de las células fue evaluada a 570 nm en un espectrofotómetro de placas (Spectra Tecan Image, Austria). Los bioensayos se realizaron de forma completa en dos ocasiones, con tres repeticiones en cada vez.

#### 4.2.3 Ensayo de Citotoxicidad

Los sobrenadantes de los ensayos de proliferación celular se emplearon para evaluar la actividad de la enzima lactato dehidrogenasa (LDH), como un indicador de lisis celular. Los sobrenadantes se co-cultivaron a temperatura ambiente ( $22 \pm 2$  °C) por 30 min con el kit de detección de LDH (Roche<sup>MR</sup>, USA), posteriormente se evaluó la densidad óptica de las muestras a 490 nm usando un espectrofotómetro de placas (Spectra Tecan Image, Austria). Por cada ensayo se establecieron tres controles; el control de fondo con 200  $\mu\text{L}$  de medio al 10 % de SFB; el negativo con 100  $\mu\text{L}$  de medio en 100  $\mu\text{L}$  de células; y el positivo con 100  $\mu\text{L}$  de células y 100  $\mu\text{L}$  de Triton X-100 (Sigma, USA) al 2 % de medio de cultivo. Las lecturas de absorbancia se emplearon para determinar el porcentaje de citotoxicidad; la diferencia entre el valor del control negativo y el valor experimental obtenido se dividió entre la diferencia del control positivo y el negativo. El cociente resultante se multiplicó por cien. Para eliminar el efecto de la absorbancia del medio de cultivo, se restó el valor promedio del control de fondo a los valores experimentales, el control positivo y el negativo.

#### 4.3 Identificación de las fracciones activas

Las fracciones activas fueron sometidas al análisis de resonancia magnética nuclear de hidrógeno (<sup>1</sup>H NMR) a 200 MHz y a cromatografía de gases acoplada a espectrometría de

masas (CG-MS) usando el espectrómetro JMS-AX 505HA (JEOL) acoplado al cromatógrafo GC Hewlett Packard 5890 series II, equipado con una columna capilar (25 m x 20 mm i. d. x 0.33 µm de espesor).

#### 4.4 Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado considerando los valores de absorbancia (570 nm) obtenidos en los ensayos de proliferación, como forma indirecta de cuantificar el número celular de cada cultivo. Dichos valores fueron sometidos a un análisis de varianza, con un nivel de significancia de 0.05 y prueba de Tukey. Se empleó el software SAS®, versión 9.0 (SAS Institute Inc. *Campus Drive*, Cary, North Caroline, USA), teniendo como variables al extracto, las fracciones y las concentraciones.

#### 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El rendimiento de los extractos crudos fue: acuoso 27 %, etanólico 25.3 % y metanólico 46.1 %. En el análisis por cromatografía en capa fina de los extractos crudos se observó que el metanólico tuvo el mayor contenido de compuestos triterpénicos, referido por la coloración característica obtenida con el revelador cromogénico (Figura 6). Este hecho resultó relevante, pues de manera convencional la actividad anticancerígena de muchas cucurbitáceas se atribuye a la presencia de triterpenos, específicamente cucurbitacinas (Kupchan *et al.*, 1973; Konopa *et al.*, 1974a; 1974b; Takemoto *et al.*, 1982; Jayaprakasam *et al.*, 2003; Attard *et al.*, 2004; Bartalis y Halaweish, 2005; Dantas *et al.*, 2006; Cadena-Iñiguez *et al.*, 2007a; Li *et al.*, 2007a; 2007b; Wang *et al.*, 2008).

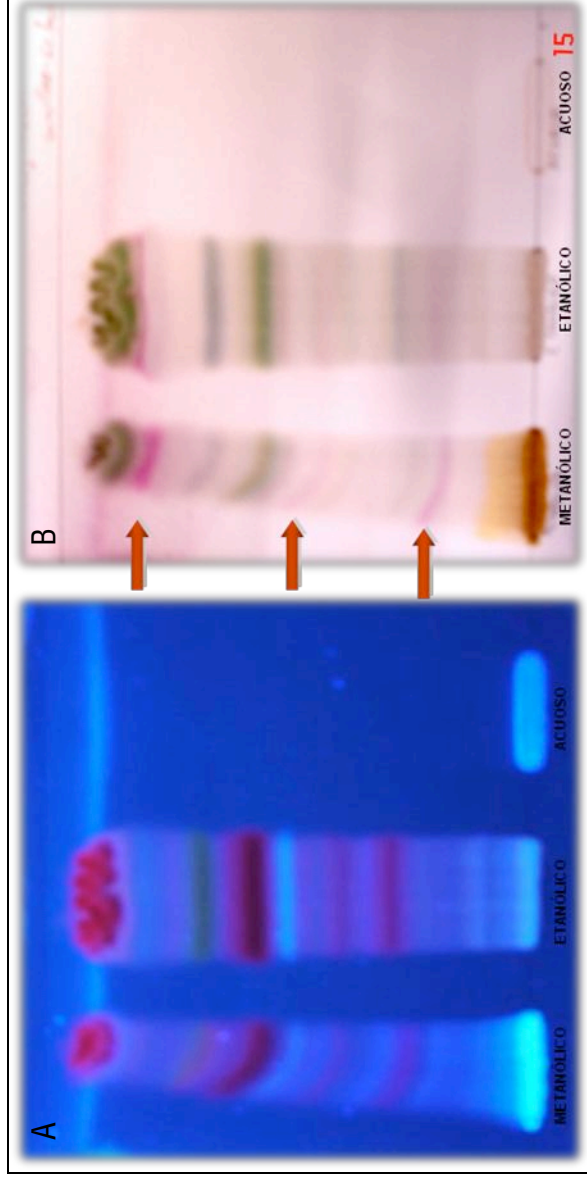


Figura 6. Cromatoplaca de los extractos crudos. A: luz UV 365 nm; B: vainillina-ácido fosfórico. Las flechas indican las bandas violetas características de los triterpenos.

En el bioensayo realizado con los extractos crudos, se observó que la actividad antiproliferativa fue de tipo dosis dependiente para los extractos alcohólicos, pues al aumentar la concentración se incrementó la inhibición en la proliferación celular en ambas líneas tumorales (Apéndice 1), sin embargo, en L-929 (Figura 7) dicho efecto fue mayor que en HeLa desde dosis intermedias (Figura 8), lo que permite sugerir mayor especificidad para esta línea celular, según la dosis. Los valores de  $IC_{50}$  de proliferación, para la L-929 fueron 0.98 y 1.54  $mg \cdot mL^{-1}$ , para los extractos etanólico y metanólico, respectivamente. En cuanto a HeLa los  $IC_{50}$  fueron 1.22 y 1.82  $mg \cdot mL^{-1}$ , del extracto etanólico y metanólico, respectivamente. El extracto acuoso no mostró actividad alguna aún en dosis altas, por lo que no se consideró en el resto de las pruebas, dicha falta de actividad puede explicarse por la poca selectividad del disolvente, es decir, en el extracto pueden encontrarse muchos tipos

de compuestos, que pueden interferir o enmascarar la actividad de pequeñas cantidades de algún principio activo (Colegate y Molyneux, 1993). Además que los extractos acuosos tienen poca estabilidad y durabilidad (Canell, 1998; Kuklinski, 2000).

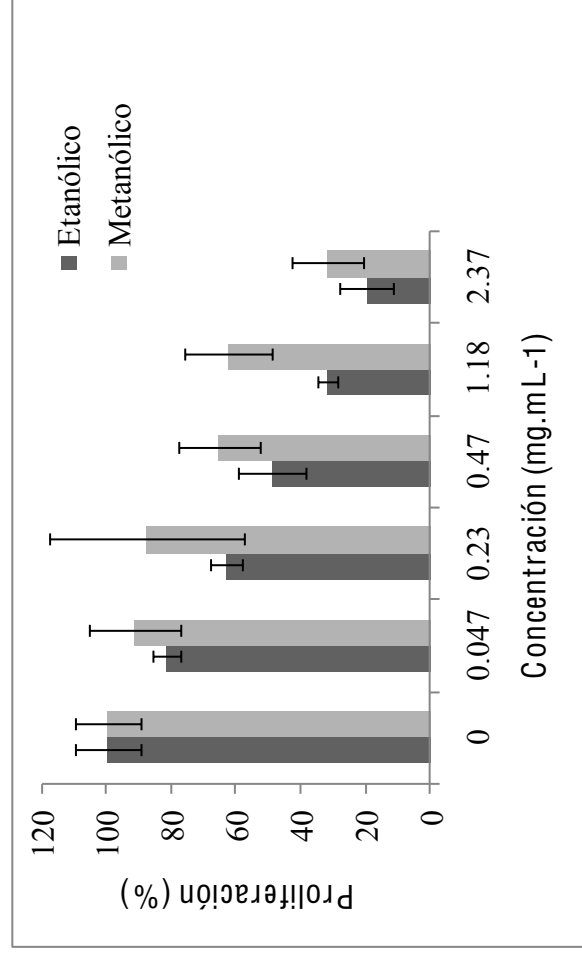


Figura 7. Efecto de los extractos etanólico y metanólico de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, sobre la proliferación celular de la línea tumoral L-929. Los valores son producto de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento. Las líneas sobre las barras indican  $\pm$  la desviación estándar.

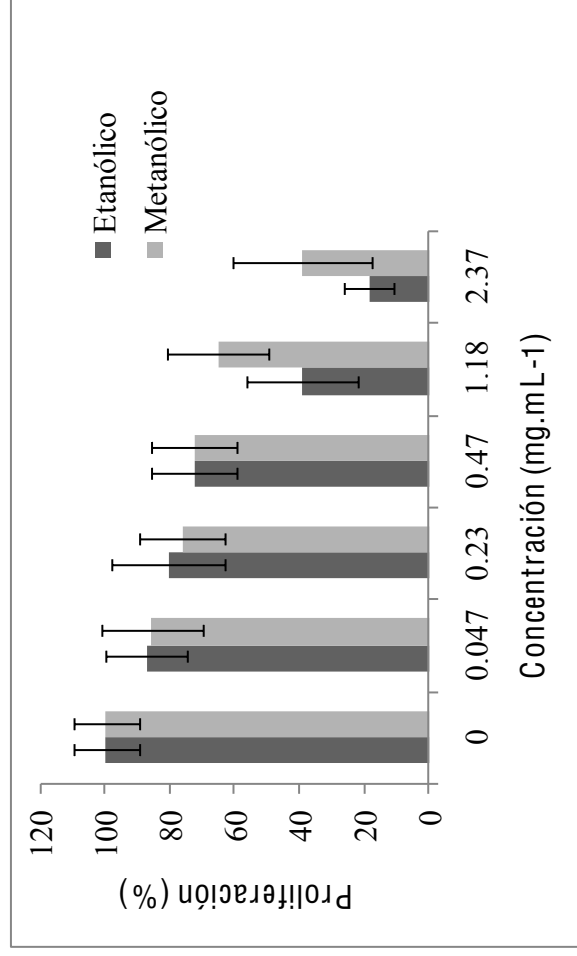


Figura 8. Efecto de los extractos etanólico y metanólico de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, sobre la proliferación celular de la línea tumoral HeLa. Los valores son producto de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento. Las líneas sobre las barras indican  $\pm$  la desviación estándar.

Según el análisis estadístico, en L-929 las dosis 0, 0.047, 0.47 y 1.18 mg·mL<sup>-1</sup> de los extractos alcohólicos no mostraron diferencias significativas, contrario a las dosis restantes, en donde el extracto etanólico tuvo un mayor efecto que el metanólico a 2.37 mg·mL<sup>-1</sup>. Para la línea HeLa, las dosis 0, 0.047, 0.23 y 0.47 mg·mL<sup>-1</sup> de ambos extractos, no mostraron diferencias significativas, pero si con la concentración de 1.18 mg·mL<sup>-1</sup>. El mayor efecto antiproliferativo sobre HeLa se dio en 1.18 y 2.37 mg·mL<sup>-1</sup> para el extracto etanólico y a 2.37 mg·mL<sup>-1</sup> para el extracto metanólico, es decir, a la dosis más alta no hubo diferencia significativa en ambos extractos (Cuadro 3). Esto puede deberse a que las polaridades de los alcoholes empleados son semejantes, según sus constantes dieléctricas: 24 para el etanol y 32.63 para el metanol a 25°C; y 25.7 para el etanol y 33.7 para el metanol a 20°C, lo que indica que los compuestos extraídos tienen polaridades semejantes (Peña, 1988).



El Cuadro 3 muestra la comparación de medias de los valores de absorbancia, indicando diferencias significativas entre las concentraciones, sin embargo, los valores más altos en todos los casos, biológicamente correspondieron a los valores de menor actividad antiproliferativa, ya que a menor absorbancia del sobrenadante de células tumorales, menor proliferación de éstas.

El análisis de varianza (Cuadro 4), mostró diferencia altamente significativa para las fuentes de variación línea, extracto y concentración, así como diferencia significativa para las interacciones línea-extracto y extracto-concentración, lo que establece que la inhibición en la proliferación de las líneas tumorales está fuertemente influenciada por el extracto y la concentración de éste.

Cuadro 3. Efecto de los extractos alcohólicos crudos de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, sobre la proliferación celular de L-929 y HeLa. Valores promedios de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento de la densidad óptica de los cultivos expresados en absorbancia.

		Concentración (mg·mL <sup>-1</sup> )					
		0	0.047	0.23	0.47	1.18	2.37
L-929							
	Etanólico	0.9157a <sup>†</sup>	0.7419ab	0.5730abcd	0.4886abcd	0.2855bcd	0.1470d
	Metanólico	0.9301a	0.8070ab	0.7178abc	0.5643abcd	0.5124bcd	0.2333cd
HeLa							
	Etanólico	1.2496a	1.0909ab	1.0091b	0.9088b	0.4836c	0.2311c
	Metanólico	1.3709a	1.1605ab	1.0326b	0.9837b	0.8935b	0.5213c

<sup>†</sup>Medias con la misma letra (s) entre tratamientos por línea tumoral son estadísticamente iguales con un  $\alpha=0.05$

Cuadro 4. Análisis de varianza para las variables: líneas tumorales, extractos alcoholólicos crudos y concentraciones de frutos de *S. edule* var. *nigrum spinosum*.

FV	GL	Absorbancia	NS
LT	1	1.228	**
EXT	1	0.223	**
LT * EXT	1	0.008	*
CO	5	0.691	**
LT * CO	5	0.008	*
EXT * CO	5	0.024	*
LT * EXT * CO	5	0.009	*
Error	23	0.018	

FV= Fuente de variación, GL= Grados de libertad, N.S.= Nivel de significancia, \*=Significativo con  $\alpha=0,05$ , \*\*= Altamente significativo con  $\alpha=0,01$ , LT= Líneas tumorales, EXT= Extractos, LT\*EXT= Interacción líneas tumorales por extractos, CO=Concentración, LT\*CO= Interacción líneas tumorales por concentración, EXT\*CO= Interacción extractos por concentración, LT\*EXT\*CO= Interacción líneas tumorales, extractos y concentración,  $R^2=0.692$ , CV= Coeficiente de variación 21.47.

Adicionalmente, se determinó el efecto citotóxico de los extractos al detectar la presencia de la enzima citoplasmática lactato deshidrogenasa en el sobrenadante de los cultivos celulares. El efecto fue de tipo dosis dependiente en ambas líneas celulares, los valores de  $CC_{50}$  para la L-929 fueron de 1.59 y 2.22  $mg \cdot mL^{-1}$ , para los extractos etanólico y metanólico, respectivamente (Figura 9). En cuanto a HeLa (Figura 10) los  $CC_{50}$  fueron 2.48 y 2.68  $mg \cdot mL^{-1}$ , del extracto etanólico y metanólico, respectivamente. Este hecho resulta relevante pues la citotoxicidad es una propiedad consistente con la actividad antitumoral y

virtualmente los agentes antineoplásicos naturales demuestran una respuesta positiva en sistemas de cultivo celular (Cordell *et al.*, 1993; Setzer y Setzer, 2003). De tal forma que al comprobar la actividad de un extracto, éste puede ser candidato para pruebas más avanzadas.

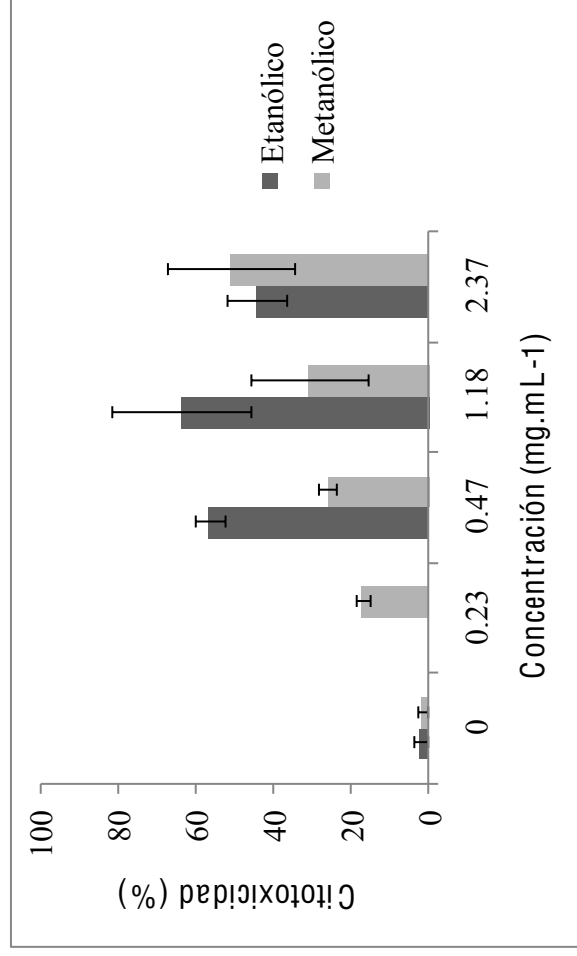


Figura 9. Citotoxicidad de los extractos etanólico y metanólico de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, sobre la línea tumoral L-929. Los valores son producto de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento. Las líneas sobre las barras indican  $\pm$  la desviación estándar.

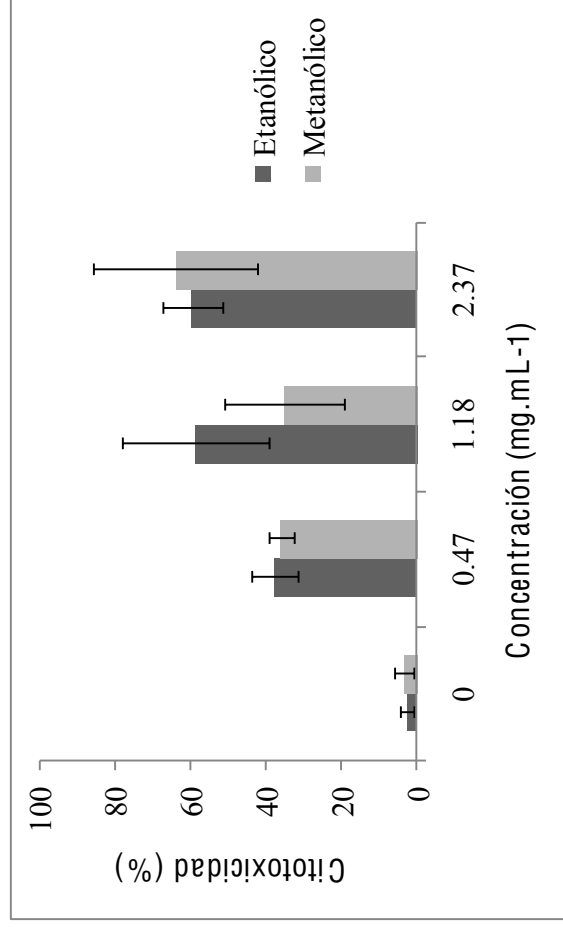


Figura 10. Citotoxicidad de los extractos etanólico y metanólico de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, sobre la línea tumoral HeLa. Los valores son producto de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento. Las líneas sobre las barras indican  $\pm$  la desviación estándar.

Cabe mencionar que el interés en especies de la familia Cucurbitaceae, está dado por diferentes motivos, sobresaliendo la búsqueda de sustancias con capacidad antitumoral de extractos crudos (Lavie y Glotter, 1971; Bruneton, 1991), por ejemplo, *Datisca glomerata* Baill, mostró actividad significativa *in vitro* sobre la línea tumorigénica KB, correspondiente a carcinoma nasofaríngeo humano (Kupchan *et al.*, 1972). Almeida *et al.* (1991), evaluaron el efecto antitumoral *in vivo* y la capacidad citotóxica *in vitro* de *Wilbrandia* sp. Por su parte Salama *et al.* (1999) demostraron la actividad citotóxica del extracto etanólico de *Cucumis dipsaceus* Wender. ex Steud. sobre las líneas tumorales K562 y Hep-2 (leucemia mieloide y carcinoma epidermoide de laringe humanos, respectivamente), debido al contenido de esteroides, triterpenos y flavonoides, según los

estudios fitoquímicos preliminares. También, se han aislado y purificado compuestos triterpénicos, de cucurbitáceas con capacidad antitumorigénica, por inducción de antígeno temprano al virus de Epstein-Barr, por el efecto inhibitorio de 12-*O*-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) (Ukiya *et al.*, 2002) y directamente sobre diferentes líneas celulares de ratón y humanas tales como colon, pecho, estomago, carcinoma hepatocelular, hígado y sistema nervioso central (Kupchan *et al.*, 1973; Konopa *et al.*, 1974a; 1974b; Takemoto *et al.*, 1982; Jayaprakasam *et al.*, 2003; Attard *et al.*, 2004; Bartalis y Halaweish, 2005; Dantas *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2007a; Chen *et al.*, 2008, Wang *et al.*, 2008).

En relación a la efectividad de los extractos crudos como agentes anticancerígenos se tiene que especies como *Cremanthodium humile* Maxim. el extracto etanólico disminuyó la tasa de supervivencia de la línea HeLa y la fracción etérea del mismo extracto mostró citotoxicidad debido al colapso de la membrana mitocondrial, liberación de citocromo *c* y activación de las caspasas -3/7 y -9, en las líneas tumorales A549, HepG2, SW480 y HeLa. Para esta última, además reportaron la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) mediada por vía de disfunción mitocondrial (Li *et al.*, 2007b). Así mismo, *Terminalia catappa* L. tuvo actividad antiproliferativa sobre carcinoma de pulmón humano (A549) en concentraciones mayores a 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  y se consideró como potencial antimetastático (Chu *et al.*, 2007). *Syzygium samarangense* (Blume), exhibió actividad citotóxica sobre la línea SW-480 (cáncer de colon humano) con un  $\text{CC}_{50}$  de 35  $\mu\text{M}$  atribuible a su contenido de chalconas (Simirgiotis *et al.*, 2008). Los extractos fenólicos de *Pinus massoi* nana Lamb., inhibieron el crecimiento del cáncer de pecho humano (MCF-7 y HELF), en un rango de concentraciones de 32.5 a 500  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (Yu *et al.*, 2008). Por otro lado, Verma *et al.* (2008) reportaron que el extracto de hojas de *Polyalthia longifolia* (Sonn.) Thw. mostró

potencial anticancerígeno sobre SW-620 (cáncer de colon humano), con una IC<sub>50</sub> de 6.1 µg·ml<sup>-1</sup>. Aún cuando las concentraciones evaluadas del extracto crudo de *S. edule* var. *nigrum spinosum* fueron mayores que las referidas en párrafos anteriores, los resultados permiten establecer en principio la potencialidad del extracto crudo como agente antineoplásico. A este respecto Biswas y Khuda-Bukhsh (2002) y Biswas *et al.* (2008) demostraron que el extracto alcohólico de *Chelidonium majus* L. tuvo efecto antitumoral y antígeno tóxico en ratones tratados con el carcinógeno *p*-dimetilaminoazobenceno (*p*-DAB) y dado que la especie se emplea en preparados homeopáticos, en forma de tintura madre como medicina complementaria y alternativa en el tratamiento del cáncer, concluyeron que dicho extracto tiene potencialidad para su uso como agente antineoplásico. Adicionalmente, se sabe que ciertos extractos de plantas muestran potencial en el tratamiento del cáncer (Balzarini *et al.*, 2000; Khuda-Bukhsh, 2003).

Específicamente para *S. edule* Wu *et al.* (1998), demostraron el contenido de la proteína sechiumina en la semilla, la cual inhibió la síntesis proteica en células cancerígenas HeLa con un IC<sub>50</sub> de 5000 nM, por lo que concluyeron que la sechiumina recombinante puede ser empleada para la preparación de inmunotoxinas con potencial quimioterapéutico. Cadena-Iñiguez *et al.* (2007a), reportaron la actividad antiproliferativa de extractos crudos de frutos de seis variedades de *S. edule* en líneas tumorales P-388 y L-929 (leucemia monocítica y fibrosarcoma de pulmón respectivamente). Por lo anterior, fue de esperar que el extracto alcohólico de *S. edule* var. *nigrum spinosum*, tuviera metabolitos capaces de inhibir el proceso de carcinogénesis, por ello, el fraccionamiento del mismo se hizo necesario.

Del fraccionamiento del extracto metanólico se obtuvieron cuatro fracciones principales con las cuales se realizaron los ensayos biológicos. La cromatografía en columna provee de un número discreto de fracciones, que no necesariamente son compuestos puros; sin embargo esta técnica es muy usada para procesar extractos crudos (Canell, 1998). Además, el análisis por cromatografía en capa fina de cada fracción es el medio más seguro de vigilancia del método de separación, aunque el orden de elución en ocasiones no refleja los valores del factor de retención (Rf) de las mismas (Ghisalberti, 1993). La panorámica de las fracciones permitió elegir las principales para la realización del ensayo biológico (Figura 11).

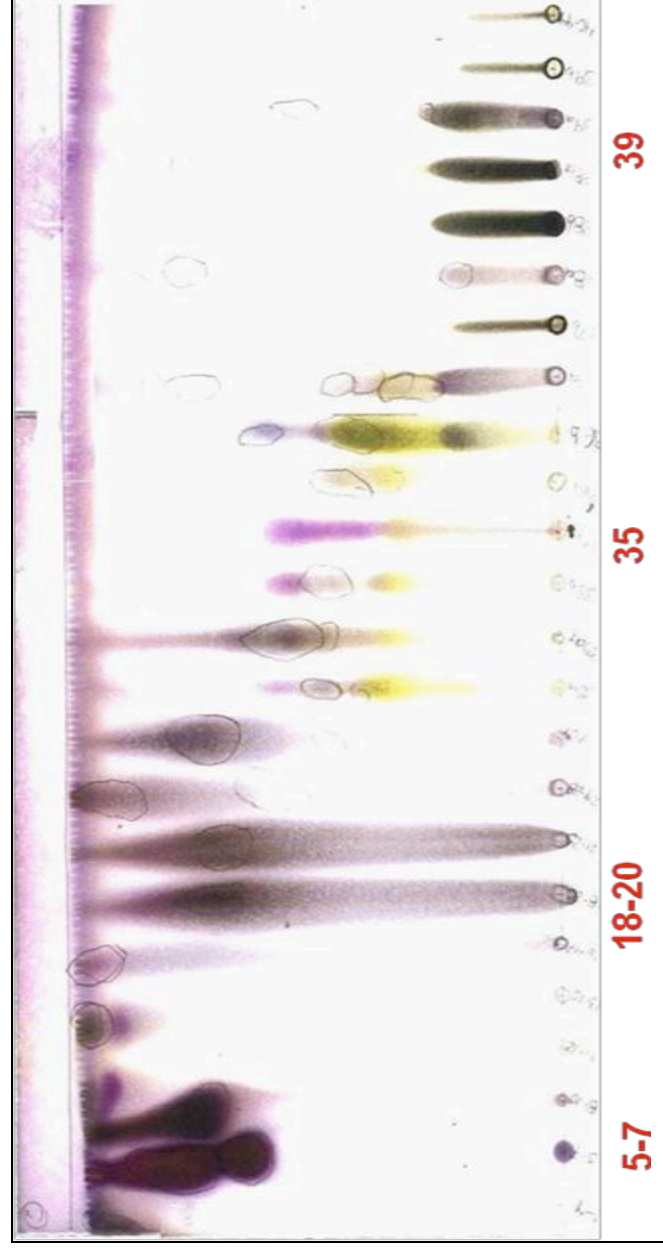


Figura 11. Fracciones principales del extracto metanólico de los frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*



La primera fracción fue la 5-7 (215 mg) de consistencia líquida oleosa color amarillo, eluida en el sistema hexano-acetato de etilo (9:1). La fracción 18-20 (35.4 mg) fue un compuesto chicloso de color café marrón, eluido en el sistema hexano-acetato de etilo (8:2). La fracción 35 (18 mg) de consistencia chiclosa de color amarillo claro, obtenida en el sistema acetato de etilo-metanol (9:1); y la fracción 39 (24 mg) eluida en el sistema acetato de etilo-metanol (8:2). Los resultados de los bioensayos para la evaluación de actividad antiproliferativa, mostraron que existió un efecto inhibitorio de tipo dosis dependiente para las fracciones 5-7, 18-20 y 39, con las cuales se siguió el estudio biodirigido. La fracción 35 no mostró actividad alguna, por lo que no fue considerada en el resto del estudio. La fracción 5-7 mostró el mayor efecto antiproliferativo en ambas líneas desde dosis intermedias para L-929 (0.23 y 0.47 mg·mL<sup>-1</sup>) y desde dosis bajas (0.047 mg·mL<sup>-1</sup>) para HeLa, lo cual permite sugerir mayor especificidad sobre esta última (Figuras 12 y 13).

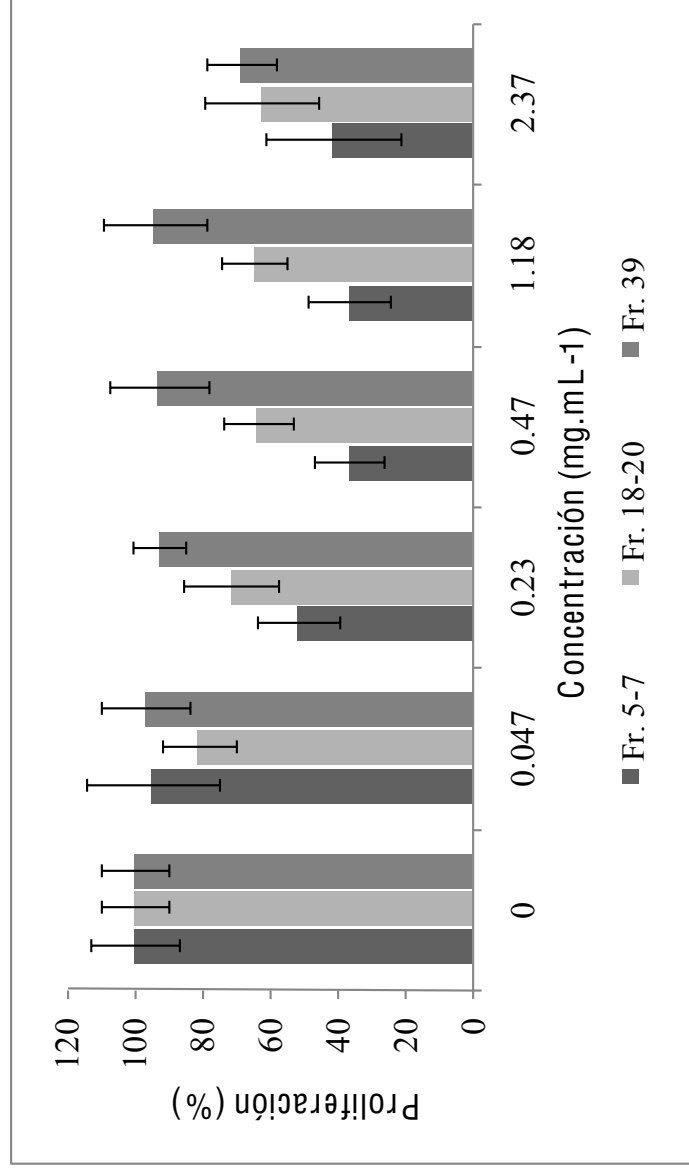


Figura 12. Actividad antiproliferativa de tres fracciones del extracto metanólico de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, sobre la línea tumoral L-929. Los valores son producto de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento. Las líneas sobre las barras indican  $\pm$  la desviación estándar.

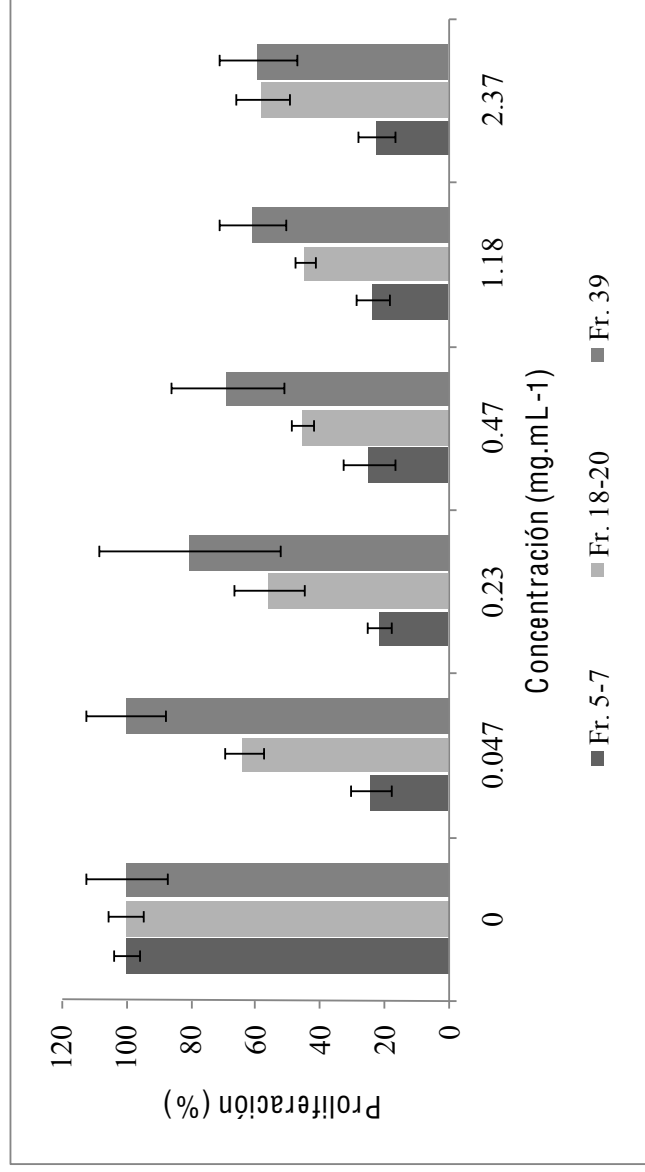


Figura 13. Actividad antiproliferativa de tres fracciones del extracto metanólico de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, sobre la línea tumoral HeLa. Los valores son producto de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento. Las líneas sobre las barras indican  $\pm$  la desviación estándar.

Para la línea tumoral L-929, los valores medios de absorbancia de la fracción 5-7 no mostraron diferencias significativas en las concentraciones de 0.47, 1.18 y 2.37 mg·mL<sup>-1</sup>, a un nivel de 0.05 (Cuadro 5), siendo estas dosis las de mayor efecto; la fracción 18-20 mostró el mayor efecto antiproliferativo a la dosis más alta; la fracción 39 no mostró efecto significativo en las dosis probadas. En HeLa los valores medios de absorbancia de la fracción 5-7 no mostraron diferencias significativas entre sí, desde la dosis de 0.047 mg·mL<sup>-1</sup> y su mayor efecto se dio a la concentración más alta; respecto a la fracción 18-20, el mayor efecto antiproliferativo se dio en las dosis 0.47 y 1.18 mg·mL<sup>-1</sup> y los valores medios de absorbancia fueron significativamente diferentes, lo cual permite sugerir mayor

especificidad para ésta línea, según la dosis; la fracción 39 no mostró efecto significativo en las dosis probadas. El Cuadro 5 muestra la comparación de medias de los valores de absorbancia, indicando diferencias significativas entre las concentraciones. Los valores más altos en todos los casos, biológicamente correspondieron a los valores de menor actividad antiproliferativa, ya que a menor absorbancia del sobrenadante de células tumorales, menor proliferación de éstas.

Cuadro 5. Efecto de tres fracciones del extracto metanólico de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, sobre la proliferación celular de L-929 y HeLa. Valores promedios de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento de la densidad óptica de los cultivos expresados en absorbancia.

		Concentración (mg·mL <sup>-1</sup> )					
		0	0.047	0.23	0.47	1.18	2.37
L-929		Absorbancia (570 nm)					
5-7	0.266a <sup>†</sup>	0.251a	0.141bc	0.100cd	0.100cd	0.106cd	0.106cd
18-20	0.101c	0.081cd	0.070cd	0.063cd	0.064cd	0.061cd	0.061cd
39	0.325a	0.316a	0.304a	0.305a	0.309a	0.224ab	0.224ab
HeLa		Absorbancia (570 nm)					
5-7	0.309a	0.074de	0.066e	0.077de	0.072de	0.069e	0.069e
18-20	0.108bc	0.079de	0.068de	0.056e	0.055e	0.082de	0.082de
39	0.242b	0.243ab	0.190bc	0.163bc	0.152bcd	0.149bcd	0.149bcd

<sup>†</sup>Medias con la misma letra (s) entre tratamientos por línea tumoral son estadísticamente iguales con un  $\alpha=0.05$

El análisis de varianza (Cuadro 6), mostró diferencia altamente significativa para las fuentes de variación línea, fracción y concentración, así como, para las interacciones línea-fracción, fracción-concentración y línea-fracción-concentración, de lo cual se desprende que la respuesta de la actividad antiproliferativa sobre las líneas tumorales, está fuertemente influenciada por la fracción y la concentración de ésta.

Cuadro 6. Análisis de varianza para las variables: líneas tumorales, fracciones y concentraciones del extracto metanólico de frutos de *S. edule* var. *nigrum spinosum*.







FV	GL	Absorbancia	NS
LT	1	0.257	**
FRA	2	1.014	**
LT * FRA	2	0.078	**
CO	5	0.119	**
LT * CO	5	0.011	*
FRA * CO	10	0.027	**
LT * FRA * CO	10	0.012	**
Error	35	0.003	

FV= Fuente de variación, GL= Grados de libertad, N.S.= Nivel de significancia, \*=Significativo con  $\alpha=0,05$ , \*\*= Altamente significativo con  $\alpha=0,01$ , LT= Líneas tumorales, FRA= Fracciones, LT\*FRA= Interacción líneas tumorales por fracciones, CO=Concentración, LT\*CO= Interacción líneas tumorales por concentración, FRA\*CO= Interacción Fracciones por concentración, LT\*FRA\*CO= Interacción líneas tumorales, fracciones y concentración,  $R^2= 0.83$ , CV= Coeficiente de variación 15.97

Dado que la fracción 5-7 fue la de mayor efecto antiproferativo en ambas líneas, se continuó con su elucidación estructural. Así, el espectro de resonancia magnética nuclear de hidrógeno ( $^1\text{H}$  MNR) mostró una señal intensa en 1.25 ppm, correspondiente a los grupos metileno de una cadena alifática, además de un multiplete en 0.9 ppm, correspondiente al metilo terminal de dicha cadena. También se observaron singuletes en 3.6 y 7.26 ppm, tripletes en 2.3 y 2.9 ppm, así como un cuarteto en 2.07 ppm; estas señales indicaron que la fracción está referida a una mezcla compleja de compuestos cuya base estructural es la cadena alifática (Apéndice 2).

El fraccionamiento cromatográfico posterior, permitió el aislamiento e identificación de los componentes mayoritarios: ester metílico del ácido 9-oxo-nonanoico, ester metílico del ácido hexadecanoico, ester etílico del ácido hexadecanoico, ester metílico del ácido 10-octadecenoico, ester metílico del ácido octadecanoico y ester octílico del ácido octadecenoico (Cuadro 7). Estos compuestos fueron separados de la mezcla por Cromatografía de Gases (Apéndice 3), los cuales mediante el análisis del patrón de fragmentación de sus espectros y en comparación con los de la biblioteca de espectros de masas confirmaron las estructuras (Apéndice 4).

Cuadro 7. Componentes mayoritarios, pesos moleculares y estructura química de la fracción 5-7 del extracto alcohólico de frutos de *S. edule* var. *nigrum spinosum* identificados por cromatografía de gases y espectrometría de masas.

Compuesto	{M} <sup>+</sup> <sup>a</sup>	Fórmula	R <sub>t</sub> (min) <sup>b</sup>	AR (%) <sup>c</sup>	Estructura química
Ester metílico del ácido 9-oxo-nonanoico	186	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	17.49	13.11	
Ester metílico del ácido hexadecanoico	270	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	24.82	100	
Ester etílico del ácido hexadecanoico	284	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	25.66	26.22	
Ester metílico del ácido 10-octadecenoico	296	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	27.01	11.47	
Ester metílico del ácido octadecanoico	298	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	27.28	13.11	
Ester octílico del ácido octadecanoico	396	C <sub>26</sub> H <sub>52</sub> O <sub>2</sub>	33.47	22.13	

<sup>a</sup> Peso molecular g.mol<sup>-1</sup>

<sup>b</sup> Tiempo de retención en minutos en el cromatógrafo de gases

<sup>c</sup> Abundancia Relativa determinada con base en las áreas de los picos obtenidos en CG-SM

Los constituyentes químicos identificados en la fracción activa 5-7 correspondieron a ester de ácidos grasos. Se sabe que altas concentraciones éstos, causan muerte celular por

apoptosis y cuando las concentraciones se incrementan la muerte celular ocurre por necrosis con inhibición de síntesis de ADN (Szczipiorowski *et al.*, 1995; Finstad *et al.*, 1998a; Eitel *et al.*, 2002; Kharroubi *et al.*, 2004; De Sousa Andrade *et al.*, 2005; Rakatzi *et al.*, 2005; Benzaria *et al.*, 2007; Gómez-Lechón *et al.*, 2007; Takeara *et al.*, 2007). Dichos compuestos causan pérdida de la integridad de la membrana celular, fragmentación de ADN (De Lima *et al.*, 2006), despolarización mitocondrial y expresión del factor de transcripción p-53 (Cury-Boaventura *et al.*, 2004; Otton y Curi, 2005), generación de especies reactivas de oxígeno y activación de varios tipos de caspasas como -3, -6 y -8 (Arita *et al.*, 2001), además pueden inducir diferenciación de células cancerosas, supresión del NF- $\kappa$ B y de la ciclooxigenasa-2, provocando decremento en la proliferación celular y reducción de angiogénesis, adicionalmente incrementan la sensibilidad a la quimioterapia, mejorando la longevidad y calidad de vida del paciente (Hardman, 2002; Pardini, 2006).

Diversos autores han comprobado que algunos ácidos grasos, principalmente los insaturados, son tóxicos para varias líneas celulares tumorales humanas como carcinoma de colon (Mengeaud *et al.*, 1992) con inhibición de la actividad de la telomerasa (Eitsuka *et al.*, 2005), peroxidación lipídica, activación de las caspasas -3, -8 y -9 y decremento de la fase S del ciclo celular (Hofmanová *et al.*, 2005); cáncer de próstata (Rose y Connolly, 1991; Pandalai *et al.*, 1996); de pecho y vejiga (Noguchi *et al.*, 1995; Davies *et al.*, 1999; Menéndez *et al.*, 2001); de pulmón (Schonberg y Skorpen, 1997); células pancreáticas (Hawkins *et al.*, 1998); laringe (Colquhoun y Curi, 1998); leucemia (Finstad *et al.*, 1998b; Siddiqui *et al.*, 2001; Lima *et al.*, 2002; Pompeia *et al.*, 2002) haciéndolas susceptibles a peroxidación lipídica con aumento de radicales lipídicos en respuesta al estrés oxidativo



(Burns y Spector, 1994). En cuanto al cáncer cérvico-uterino (HeLa), Sagar *et al.* (1992) sugirieron que la acción citotóxica de los ácidos grasos contra dicha línea celular es un proceso dosis dependiente, mediado por radicales libres y que puede ser suprimida por antagonistas de calmodulina.

Adicionalmente, los ácidos grasos saturados, como los aislados en el presente estudio, son también tóxicos para algunos tipos celulares, incluyendo células tumorales (Sparagna *et al.*, 2000; Cnop *et al.*, 2001; Listenberg *et al.*, 2001; Ostrander *et al.*, 2001; Mu *et al.*, 2001; Lu *et al.*, 2003; De Sousa Andrade *et al.*, 2005). En este contexto, Matsubara *et al.* (2007), evaluaron la actividad anticancerígena de ácidos grasos conjugados con catequinas (acyl-catequina) y demostraron la inhibición de la actividad de ADN polimerasa en la línea celular de leucemia promielocítica humana (HL-60). Ohashi *et al.* (2003), reportaron que los ácidos grasos C18, mostraron un potente efecto inhibitorio (99.4% con  $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) en líneas celulares cancerígenas de rata. Por otro lado, Onuki *et al.* (2006) indicaron que ácidos grasos como, el docosahexanoico y eicosapentanoico, están ligados a la prevención de enfermedades del corazón y cáncer, además demostraron los cambios estructurales y físicos en una bicapa de liposoma, inducidos por el tratamiento con ácidos grasos saturados e insaturados, la respuesta fue de tipo dosis dependiente. Específicamente los ácidos grasos palmítico, (Z)-9-octadecenoico y octadecenoico tienen propiedades apoptóticas en líneas tumorales de colon debido a daño en el AND y activación de la caspasa-3 (Yoo *et al.*, 2007). Por otro lado, Choo *et al.* (2001) evaluaron la actividad antiproliferativa de la mezcla de esteres metílicos de los ácidos octadecanoico y hexadecanoico sobre P-388, y aún cuando concluyeron que ninguno de los compuestos identificados son potencialmente útiles como agentes anticancerígenos, en el presente estudio los esteres de ácidos grasos

como el hexadecanoico demostraron efecto antiproliferativo, siendo este el componente mayoritario de la fracción 5-7.

Por otro lado, como parte del análisis de la composición química del chayote se purificó el triterpeno  $\beta$ -amirina de la fracción 78-85; aislada por cromatografía en columna de una fracción etérea del extracto metanólico (Figura 14). A este compuesto se le realizó el análisis por resonancia magnética nuclear de hidrógeno, obteniendo las siguientes constantes espectroscópicas ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz, ppm):  $\delta$  0.68 y 0.80 (s-2CH<sub>3</sub>-H-28 y 24);  $\delta$  0.82 (s-2CH<sub>3</sub>-H-30-29;  $\delta$  0.84, 0.91, 0.93 y 1.01 (s-3H-H27, 26, 23, 25)  $\delta$  3.5 (m-1H-H-3)  $\delta$  5.3 (d-1H-H12) (Apéndice 5). Dicho triterpeno es un compuesto cristalino, blanco con punto de fusión de 133-135 °C, cuya fórmula molecular es C<sub>30</sub> H<sub>50</sub> O. La  $\beta$ -amirina es ampliamente distribuida en el reino vegetal (Domínguez, 1988) y presenta propiedades anticonceptivas (Pinto *et al.*, 2007; Soldi *et al.*, 2008) y antiinflamatorias (Otuki *et al.*, 2005; Carretero *et al.*, 2008); sin embargo, en el presente estudio no fue evaluada su actividad antiproliferativa.

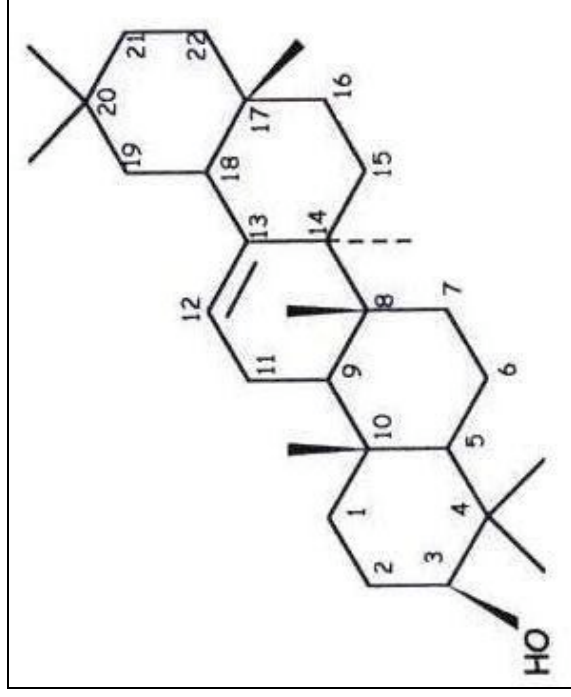


Figura 14. Estructura química de  $\beta$ -amirina.

De manera convencional la actividad anticancerígena de muchas cucurbitáceas, ha sido atribuida a la presencia de triterpenos, específicamente a las cucurbitacinas, sin embargo, en el presente estudio se demuestra que también los esteres de ácidos grasos saturados procedentes de frutos de *S. edule* de la variedad estudiada, como los registrados en la fracción 5-7, tienen dicha actividad, lo cual amplía la gama de principios químicos como agentes antineoplásicos para la especie.

El gráfico de proliferación celular de L-929 (Figura 15), mostró que el mayor efecto inhibitorio se dio para los extractos alcohólicos crudos en la dosis más alta ( $2.37 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). Sin embargo también sobresale la fracción 5-7 desde la concentración de  $0.23 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , teniendo el mayor efecto en las dosis de  $0.47$  y  $1.18 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , con inhibición de proliferación de alrededor del 64 %. Para el caso de la línea celular HeLa (Figura 16) el mayor efecto se dio para el extracto etanólico crudo con inhibición de alrededor del 82 %,

añado a esto la fracción 5-7 también tuvo un efecto notorio desde la dosis de  $0.23 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  con valores de alrededor del 76 %.

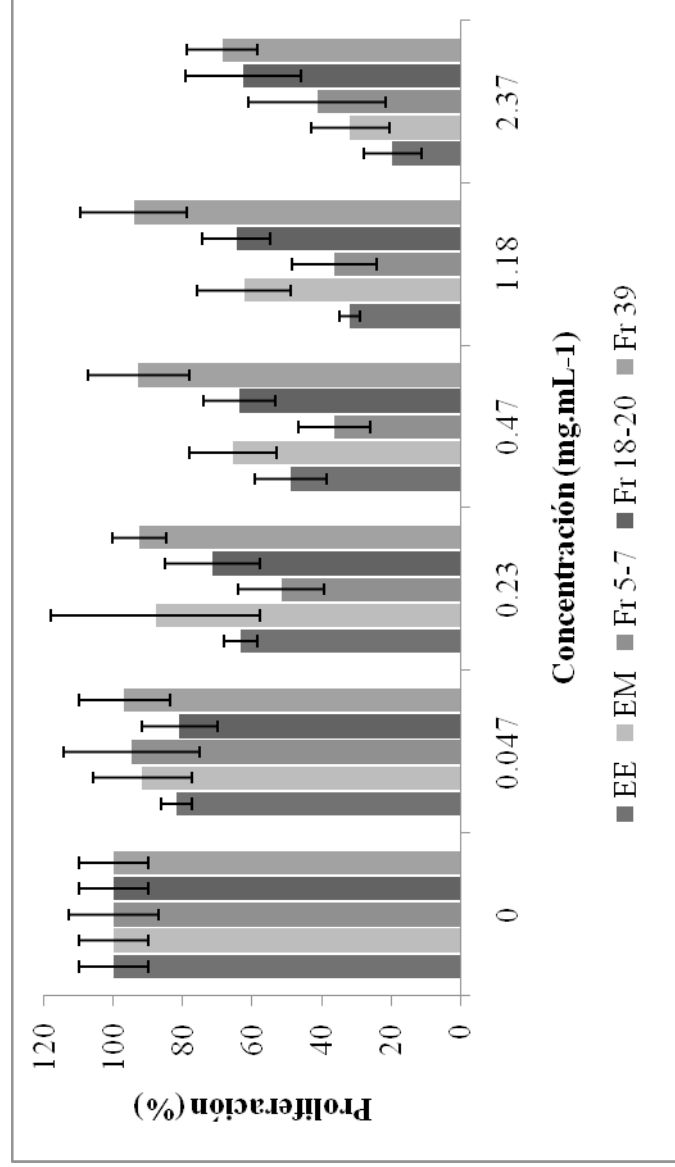


Figura 15. Actividad antiproliferativa de los extractos alcohólicos y tres fracciones del extracto metanólico de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, sobre la línea tumoral L-929. EE: extracto etanólico; EM: extracto metanólico. Los valores son producto de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento. Las líneas sobre las barras indican  $\pm$  la desviación estándar.

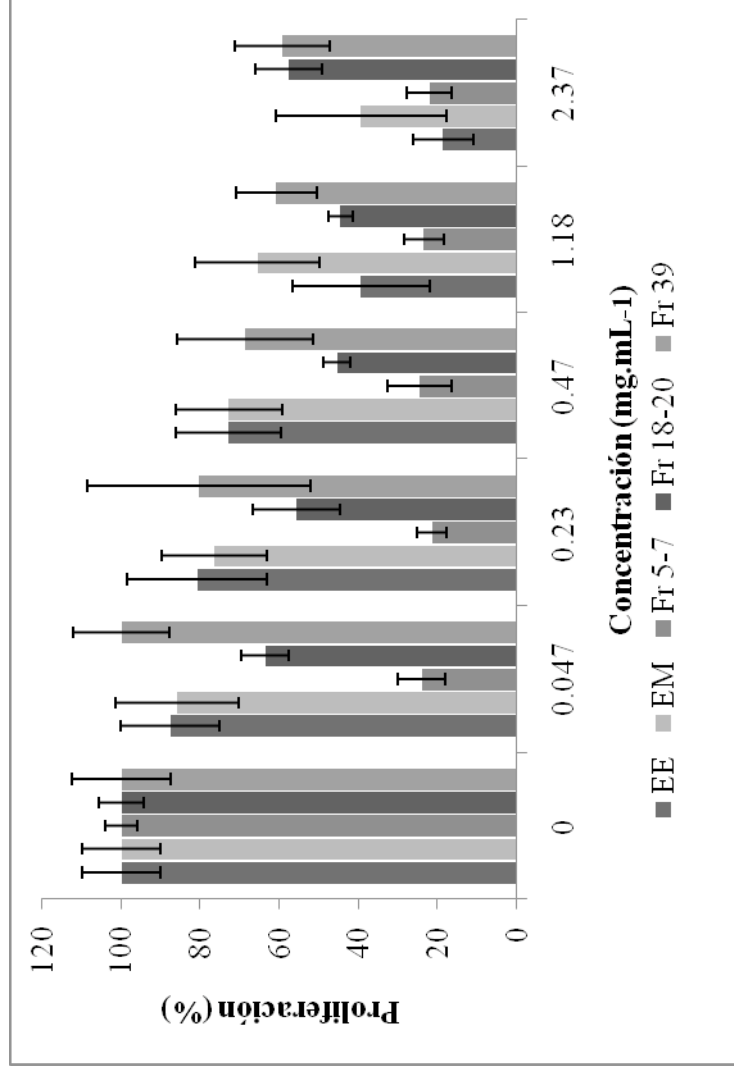


Figura 16. Actividad antiproliferativa de los extractos alcohólicos y tres fracciones del extracto metanólico de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, sobre la línea tumoral HeLa. EE: extracto etanólico; EM: extracto metanólico. Los valores son producto de dos bioensayos con tres repeticiones por tratamiento. Las líneas sobre las barras indican  $\pm$  la desviación estándar.

La mayor actividad de los extractos alcohólicos sobre L-929 y etanólico en HeLa puede deberse a la presencia de múltiples metabolitos, que se encuentran en forma de mezcla compleja y que actúan sinérgicamente (Pezzuto, 1997). En este sentido se sabe que especies del género *Sechium*, tales como *S. pittieri* y *S. talamancense* presentaron una actividad antiproliferativa frente a las líneas tumorales HeLa, MK-1 (adenocarcinoma gástrico humano) y B16F10 (melanoma murino) con valores de ED<sub>50</sub> de 10-74  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , debido al contenido de las saponinas llamadas tacacosidos A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> y C, aisladas de frutos y

partes aéreas (Castro *et al.*, 1997). En este contexto se conoce que *Sechium edule* contiene compuestos activos reportados para otras líneas celulares y en diversas especies, tales como el  $\beta$ -sitosterol que demostró citotoxicidad sobre las líneas MDA-MB-231 y MCF-7 (cáncer de pecho), por medio de activación de la caspasa-8 (Awad *et al.*, 2003; 2007); el flavonoide apigenina es citotóxico sobre cáncer de próstata (DU-145), colorectal (SNU-C4), pecho (MDA-MB-231) y pulmón (A549), por activación de la caspasa-3 o por inhibición de angiogénesis (Liu *et al.*, 2005; Mak *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2008). Además de los triterpenos, específicamente las cucurbitacinas, cuya estructura básica es el  $19(10\rightarrow9\beta)$  *abeok-10\alpha*-lanostano (Abd El-Fattah, 1994). Se sabe que las cucurbitáceas presentan en su mayoría un alto número de cucurbitacinas en forma de dihidro e isoderivados, lo cual dificulta su identificación (Jacobs *et al.*, 1990), dichos compuestos han demostrado ser promisorios agentes antineoplásicos, debido a la citotoxicidad mostrada en diversas líneas celulares tumorales humanas como de ovario, carcinoma naso faringeo (KB y HONE-1), de colon (HCT-116), pecho (MCF-7), pulmón (A549, NCI-H460), sistema nervioso central (SF-268), carcinoma gástrico (NUGC-3) y carcinoma hepático (HepG2) (Oberlies *et al.*, 2001; Ito *et al.*, 2002; Jayaprakasam *et al.*, 2003; Setzer y Setzer, 2003; Wu *et al.*, 2004; Attard *et al.*, 2005; Bartalis y Halaweish, 2005), con mecanismos de acción como la disrupción de la actina, activación selectiva de transductores de señal y activadores de transcripción (STATs) (Duncan y Duncan, 1997; Balskovich *et al.*, 2003; Sun *et al.*, 2005). Lo anterior aunado a la proteína *sechiumina* (Wu *et al.*, 1998) pueden ser los responsables de la actividad mostrada por los extractos crudos.

Adicionalmente se sabe de las propiedades antiinflamatoria y antioxidante de la especie, lo cual cobra relevancia pues estos mecanismos están relacionados con la prevención y tratamiento del cáncer (Salganik, 2001; Coussens y Werb, 2002; Lin *et al.*, 2002; Seifried *et al.*, 2003; Liu, 2004; Marx, 2004; Aggarwal *et al.*, 2006; Lawrence, 2007; Pate *et al.*, 2007); aunado a la forma de consumo de la especie, es decir, en infusión o cocimiento, el panorama es alentador para su uso potencial como agente quimioterapéutico, debido a que Yen *et al.* (2001) indicaron que los extractos acuosos de *Sechium edule* no indujeron daño sobre linfocitos normales humanos, es decir, la especie presenta seguridad farmacológica. Por otro lado, se ha determinado que existe relación entre la actividad anticancerígena y la quimioprevención, aún en modelos de evaluación *in vitro* (Pezzuto, 1997; González-Laredo *et al.*, 2007). Por lo anterior, el chayote, al demostrar la capacidad antiproliferativa y citotóxica, cobra relevancia como un agente quimiopreventivo.

## 6. CONCLUSIONES

Los extractos etanólico y metanólico de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*, presentaron actividad antiproliferativa y citotóxica sobre las líneas celulares de fibrosarcoma de pulmón de ratón (L-929) y cáncer cérvico uterino humano (HeLa) de tipo dosis dependiente, mostrando mayor especificidad para ésta última en dosis altas. De las cuatro fracciones principales del extracto metanólico, tres mostraron actividad antiproliferativa en las líneas tumorales, siendo la fracción 5-7 la de mayor actividad respecto a las fracciones 18-20 y 39, así como mayor especificidad sobre HeLa desde dosis bajas. Los componentes químicos identificados en dicha fracción correspondieron al grupo de esteres de ácidos grasos saturados. La presencia de éstos ácidos en los frutos comestibles de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum* amplía la gama de metabolitos y fuentes de especies vegetales con actividad antineoplásica. Las fuentes de variación de mayor significancia estadística en este estudio fueron las fracciones, la concentración de éstas y la interacción línea-fracción; sin embargo, se sugiere continuar con más investigaciones que relacionen la interacción línea-fracción-concentración. Finalmente, se considera importante incorporar dentro de evaluaciones futuras a la  $\beta$ -amirina, identificada como un componente más de *S. edule* var. *nigrum spinosum*.



## 7. LITERATURA CITADA

- Abd El-Fattah, H. A. 1994. Structure revision of cucurbitacin Q<sub>1</sub>. *Phytochemistry* 36(1): 159-161.
- Abdelnour, A., C. Ramirez, F. Engelmann. 2002. Micropropagación de chayote (*Sechium edule* Jacq. Sw.) a partir de brotes vegetativos. *Agronomía mesoamericana* 13(2): 147-151
- Affi, M.S., S.A. Ross, M.A. Sohly, Z.E. Naeem, F.T. Halaweish. 1999. Cucurbitacins of *Cucumis prophetarum* and *Cucumis prophetarum*. *Journal of chemical ecology* 25(4): 847-859.
- Aggarwal, B.B], S. Shishodia, S.K. Sandur, M.K. Pandey, G. Sethi] 2006. Inflammation and cancer: how hot is the link? *Biochemical pharmacology* 72(11): 1605-1621.
- Allen, J.G], S.M] Colegate, A.A] Mitchell, R.J] Mulder, M.F] Raisbeck. 2006. The bioactivity-guided isolation and structural identification of toxic cucurbitacin steroidal glucosides from *Stemodia kingii*. *Phytochemical analysis* 17(4): 226-35.
- Almeida, F.R.C., V.S.N. Rao, M.E.O. Matos. 1991. Antiinflammatory, antitumor and antifertility effects in rodents of two nor-cucurbitacin glucosides from *Wilbrandia* species. *Phytotherapy research* 6: 189-193.
- Arita, K., H. Kobuchi, T. Utsumi, Y. Takehara, J. Akiyama, A.A. Horton, K. Utsumi. 2001. Mechanism of apoptosis in HL-60 cells induced by n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *Biochemical pharmacology* 62: 821-828.
- Attard, E., A. Cuschieri, A. Scicluna-Spinteri, M.P. Brincat. 2004. The effects of cucurbitacin E on two lymphocyte models. *Pharmaceutical biology* 42(2): 170-175.
- Attard, E., A.Cuschieri, M.P. Brincat. 2005. Morphological effects induced by cucurbitacin E on ovarian cancer cells *in vitro*. *Journal of natural remedies*. 5(1): 70-74.
- Aung, L.H., R.E. Rij, D.C. Fouse, J.E. Lindegren. 1992. Postharvest fruit respiration and sugars changes of *Sechium edule* Swartz. *Phyton* 53(2): 125-134.
- Awad, A.B., H. Williams, C.S. Fink. 2003. Effect of phyosterols on cholesterol metabolism and MAP kinase in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Journal of nutritional biochemistry* 14: 111-119.

- Awad, A.B., M. Chinnam, C.S. Fink, P.G. Bradford. 2007.  $\beta$ -Sitosterol activates Fas signaling in human breast cancer cells. *Phytomedicine* 14: 747-754.
- Balandrin, M.F., J.A. Klocke, E.S. Wurtele, W.H. Bollinger. 1985. Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal herbs. *Science* 228: 1154-1160.
- Balzarini, A., E. Felisi, A. Marini, F. De Conno. 2000. Efficacy of homeopathic treatment of skin reactions during radiotherapy for breast cancer: a randomized, double blind clinical trial. *British homeopathic journal* 89(1): 8-12.
- Bancomext, SNC. 1999. Estudio de factibilidad económica para la exportación de chayote sin espinas (*Sechium edule*) Centro Bancomext, Veracruz, México. 179p.
- Bartalis, J., F.T. Halaweish. 2005. Relationship between cucurbitacins reversed-phase high-performance liquid chromatography hydrophobicity index and basal cytotoxicity on HepG2 cells. *Journal of chromatography B, biomedical applications* 818(2): 159-166.
- Benzaria, A., N. Meskini, M. Dubois, G. Némoz, M. Lagarde, A.-F. Prigent. 2007. Phospholipase D as a potential target for the antiproliferative effects of polyunsaturated fatty acids in rat thymocytes. *Journal of nutritional biochemistry* 18: 228-235.
- Biswas, S.J., A.R. Khuda-Bukhsh. 2002. Effect of a homeopathic drug, Chelidonium, in amelioration of p-DAB induced hepatocarcinogenesis in mice. *BioMed Central complementary and alternative medicine* DOI: 10.1186/1472-6882-2-4.
- Biswas, S.J., N. Bhattacharjee, A.R. Khuda-Bukhsh. 2008. Efficacy of a plant extract (*Chelidonium majus* L.) in combating induced hepatocarcinogenesis in mice. *Food and chemical toxicology*. DOI: 10.1016/j.fct.2007.12.009.
- Blaskovich, M.A., J. Sun, A. Cantor, J. Turkson, R. Jove, S.M. Sebti. 2003. Discovery of JSI-124 (Cucurbitacin I), a selective janus kinase/signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathway inhibitor with potent antitumor activity against human and murine cancer cells in mice. *Cancer research* 63:1270-1279.
- Bruneton, J. 1991. Elementos de fitoquímica y farmacognosia. Editorial ACRIBIA S. A., México pp. 343.

Bueno, R.R., S. Moura, O.M. Fonseca. 1970. Preliminary studies on the pharmacology of *Sechium edule* leaves extracts. Anais da academia brasileira de ciências 40: 285-289.

Burns, C.P., A.A. Spector. 1994. Biochemical effects of lipids on cancer therapy. [Journal of nutritional biochemistry](#) 5: 114-123.

Bye, R., E. Estrada L., E. Linares. 1992. Recursos genéticos en plantas medicinales de México. pp. 362-370. *In*: E. Estrada L. (ed.) Plantas medicinales de México, introducción a su estudio. 4ª edición. Universidad Autónoma Chapingo, México.

Cadena-Iñiguez, J., L.M. Ruiz-Posadas, L.C. Trejo, G.P. Sánchez, M.J.F. Aguirre. 2001. Intercambio de gases y relaciones hídricas del chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) Revista Chapingo Vol VII (1): 21-35.

Cadena-Iñiguez, J. 2005. Caracterización morfoestructural, fisiológica, química y genética de diferentes tipos de chayote. (*Sechium edule* (Jacq.) Sw). Tesis doctoral. Colegio de Postgraduados. México.

Cadena-Iñiguez, J., L. M. Ruiz-Posadas, V. Barriga A., G. Campos-Ángeles, E. Santiago-Osorio, M. Soto-Hernández, A.C. Torres. 2005. Efecto de extractos etéreos de cinco ecotipos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) en diferentes líneas tumorales. *In*: Memorias del IV seminario Internacional Efraín Hernández Xolocotzi in memoriam. Instituto Tecnológico agropecuario de Oaxaca.

Cadena-Iñiguez, J., L. Arévalo-Galarza, L.M. Ruiz-Posadas, J.F. Aguirre-Medina, M. Soto-Hernández, M. Luna-Cavazos, H.A. Zavaleta-Mancera. 2006. Quality evaluation and influence of 1-MCP on *Sechium edule* (Jacq.) Sw. fruit during postharvest. Postharvest biology and technology 40: 170-176.

Cadena-Iñiguez, J., L. Arévalo-Galarza, C.H. Avendaño-Arrazate, M. Soto-Hernández, L.M. Ruiz-Posadas, E. Santiago-Osorio, M. Acosta-Ramos, V.M. Cisneros-Solano, J.F. Aguirre-Medina, D. Ochoa-Martínez. 2007a. Production, genetics, postharvest management and pharmacological characteristics of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. Fresh produce 1(1): 41-53.

Cadena-Iñiguez, J., C.H. Avendaño-Arrazate, M. Soto-Hernández, L.M. Ruiz-Posadas, J.F. Aguirre-Medina, L. Arévalo-Galarza. 2007b. Intraspecific variation of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. in the state of Veracruz, Mexico. Genetic resources and crop evolution DOI 10.1007/s10722-007-9288-4.

- Caneill, R.J.P. 1998. How to approach the isolation of a natural product. pp. 1-46. *In: R.J.P. Caneill (ed.). Methods in biotechnology, vol. 4: natural products isolation.* Humana press Inc., Totowa, New Jersey.
- Carretero, M.E., J.L. López-Pérez, M.J. Abad, P. Bermejo, S. Tillet, A. Israel, B. Noguera-P. 2008. Preliminary study of the anti-inflammatory activity of hexane extract and fractions from *Bursera simaruba* (Linneo) Sarg. (Burseraceae) leaves. *Journal of ethnopharmacology* 116(1): 11-15.
- Castro, V.H., E. Ramírez, G.A. Mora, Y. Iwase, T. Nagao, H. Okabe, H. Matsunaga, M. Katano, M. Mori. 1997. Structures and antiproliferative activity of saponins from *Sechium pittieri* and *S. talamancense*. Chemical and pharmaceutical bulletin 45(2): 349-358.
- Che, C.; X. Fang; C. H. Phoebe; A. D. Kiunghorn and N. R. Farnsworth. 1985. High-field <sup>1</sup>H-NRM spectral analysis of some cucurbitacins. Journal of natural products 48(3): 429-434.
- Chen, J., R. Tian, M. Qiu, L. Lu, Y. Zheng, Z. Zhang. 2008. Trinorcucurbitane and cucurbitane triterpenoids from the roots of *Momordica charantia*. Phytochemistry 69(4): 1043-1048.
- Choo, Ch.Y., K.L. Chan, T.W. Sam, Y. Hitotsuyanagi, K. Takeya. 2001. The cytotoxicity and chemical constituents of the hexane fraction of *Typhonium flagelliforme* (Araceae). Journal of ethnopharmacology 77(7): 129-131.
- Chu, S.-C., S.-F. Yang, S.-J. Liu, W.-H. Kuo, Y.-Z. Chang, Y.-S. Hsieh. 2007. In vitro and in vivo antimetastatic effects of *Terminalia catappa* L. leaves on lung cancer cells. Food and chemical toxicology 45(7): 1194-1201.
- Cnop, M., J.C. Hannaert, A. Hoorens, D.L. Eizirik, D.G. Pipeleers. 2001. Inverse relationship between cytotoxicity of free fatty acids in pancreatic islet cells and cellular triglyceride accumulation. Diabetes 50: 1771-1777.
- Colegate, S.M., R.J. Molyneux. 1993. Introduction and overview. pp. 2-15. *In: S.M. Colegate, R.J. Molyneux (eds.) Bioactive natural products. Detection, isolation and structural determination.* CRC Press. London.

- Coleman, W.B., G.J. Tsongalis. 2002. Cancer epidemiology. Incidence and etiology of human neoplasms. pp. 3-5. *In*: W.B. Coleman, G.J. Tsongalis (eds.) The molecular basis of human cancer. Humana press Inc., Totowa, New Jersey.
- Colquhoun, A., R. Curi. 1998. Effects of saturated and polyunsaturated fatty acids on human tumor-cell proliferation. *General pharmacology* 30(2): 191-194.
- Cordell, G.A., A.D. Kinghorn, J.M. Pezzuto. 1993. Separation, structure elucidation and bioassay of cytotoxic natural products. pp. 196-219. *In*: S.M. Colegate, R.J. Molyneux (eds.). Bioactive natural products. Detection, isolation and structural determination. CRC Press. London.
- Coussens, L.M., Z. Werb. 2002. Inflammation and cancer. *Nature* 420: 860-867.
- Cragg, G.M., D.J. Newman. 2005. Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of ethnopharmacology* 100: 72-79.
- Cross, H.B. 2003. Evolution, systematics, and domestication in *Sechium* and related genera (Sicyeae, Cucurbitaceae). Tesis doctoral. Columbia University. U.S.A.
- Cury-Boaventura, M.F., C. Pompéia, R. Curi. 2004. Comparative toxicity of oleic acid and linoleic acid on Jurkat cells. *Clinical nutrition* 23(4): 721-732.
- Dantas, I.N., G.C.M. Gadelha, D.C. Chaves, F.J.Q. Monte, C. Pessoa, M.O. de Moraes, L.V. Costa-Cotuflo. 2006. Studies on the cytotoxicity of cucurbitacins isolated from *Cayaponia racemosa* (Cucurbitaceae). *Zeitschrift für naturforschung C. Journal of biosciences* 61(9-10): 643-646.
- Davies, C.L., M. Loizidou, A.J. Cooper, Y. Taylor. 1999. Effect of linolenic acid on cellular uptake of structurally related anthracyclines in human drug sensitive and multidrug resistant bladder and breast cancer cell lines. *European journal of cancer* 35(10): 1534-1540.
- De Donato, M., H. Cequea. 1994. A cytogenetic study of six cultivars of the chayote, *Sechium edule* Sw. (Cucurbitaceae). *Journal of heredity* 85(3): 238-241.
- De Lima, T.M., L. de Sa Lima, C. Scavone, R. Curi. 2006. Fatty acid control of nitric oxide production by macrophages. *FEBS Letters* 580: 3287-3295.

- De Sousa Andrade, L.N., T.M. de Lima, R. Curi, A.M. Castrucci. 2005. Toxicity of fatty acids on murine and human melanoma cell lines. *Toxicology in vitro* 19: 553-660.
- De Vita, V. 1993. Principles of chemotherapy. pp. 276-293. *In: V. De Vita, S. Hellman, S.A. Rosenberg* (eds). *Cancer: principles and practice of oncology*, 4<sup>a</sup> edición volume I. J.R Lippincott Company, Philadelphia.
- Delporte, C.; O. Munoz; J. Rojas; M. Ferrándiz; M. Payá; S. Erazo; R. Negrete; S. Maldonado; A. San Feliciano and N. Backhouse. 2002. Pharmacotoxicological study of *Kageneckia oblonga*, Rosaceae. *Zeitschrift für naturforschung* 57c: 100-108.
- Dewick, P.M. 1991. Plantas como inhibidores de tumores. pp.692-715. *In: W.C. Evans* (ed.). *Farmacognosia* 13<sup>a</sup> edición. Interamericana-McGraw-Hill. México.
- Diré, G.F., E.A.C. Lima, D. Mattos, M.B. Oliveira, M.J. Pereira, S.R. Moreno, R. Freitas, M.L. Gomes, M. Bernardo-Filho 2001. Effect of chayotte (*Sechium edule*) extract on the biodistribution of technetium-99m and on the morphometry of red blood cells. *Journal of labelled compounds and radiopharmaceuticals* 44: S648-S650.
- Diré, G. F., E.A.C. Lima, M.J. Pereira, M.B. de Oliveira, S.R. Moreno, D.M. de Mattos, R.L. Jales, M. Bernardo-Filho. 2002. Effect of a chayotte (*Sechium edule*) extract on the labeling of red blood cells and plasma proteins with technetium-99m: in vitro and in vivo studies. *Cellular and molecular biology* (Noisy-le-Grand, France). 48(7): 751-755.
- Diré, G. F., E. A.C. Lima, M.L. Gomes, M. Bernardo-Filho. 2003a. The effect of a chayotte (*Sechium edule*) extracts (decoct and macerated) on the labeling of blood elements with Technetium-99m and on the biodistribution of the radiopharmaceutical sodium pertechnetate in mice: an *in vitro* and *in vivo* analysis. *Pakistan journal of nutrition* 2(4): 221-227.
- Diré, G.F., E.A.C. Lima, M.L. Gomes, S. Moreno, M.V.C. Faria, R.L. Jales, M.T.J.A. Catanho, M. Bernardo-Filho. 2003b. Evaluation of the biological effects of a natural extract of chayotte (*Sechium edule*): a molecular and cellular analysis. *Pakistan journal of nutrition* 2(4): 249-253.
- Diré, G.F., M.L. Gomes, E.A.C. Lima, R.L. Jales, M. Castro F., M. Bernardo-Filho. 2004a. Assessment of a fruit extract (*Sechium edule*) on the labeling of blood elements with technetium-99m. *African journal of biotechnology* 3(9): 484-488.
- Diré, G.F., M.L. Gomes, E.A.C. Lima, R.L. Jales, M. Castro F., M. Bernardo-Filho. 2004b. Study of the effects of chayotte (*Sechium edule*) extracts on the plasmid pUC. 9.1 DNA. *Nature and science* 2(3): 48-54.

- Diré, G.F., M.L. Gomes, E.A.C. Lima, R.L. Jales, M. Castro F., M. Bernardo-Filho. 2004c. Effect of chayotte extract on the biochemical determinations and on molecular and cellular levels. *Journal of biological sciences* 4(2): 146-150.
- Diré, G.F., L.A. Dias, G.J. Vilela, L.C. Brito, S.F. Soares, M.L. Gomes, M. Bernardo-Filho, M.L. Fernandes. 2005a. Evaluation of the biological effects of a natural extract of chayotte (*Sechium edule*): a radiolabeling analysis. *International journal of network management* 20(3): 67-71.
- Diré, G.F., E. A.C. Lima, M.L. Gomes, M. Bernardo-Filho. 2005b. In vitro assessment of the effects of a chayotte (*Sechium edule*) extract (decoct) on the morphology of red blood cells and on the labeling of blood elements with Technetium-99m. *World journal of nuclear medicine* 4(3): 191-195.
- Diré, G.F., L.A. Dias, G.J. Vilela, L.C. Brito, S.F. Soares, G.P.N. Rabelo, C.C. Pessoa, M.L. Gomes, M. Bernardo-Filho, M.L. Fernandes. 2006a. Effect of a chayotte (*Sechium edule*) extract on the radiolabelling of blood elements in diabetic rats. *Boletín latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas* 5(2): 36-41.
- Diré, G.F., S.D.D. Vasconcelos, P.R.A. Siqueira, M.R. Duarte, M.C.L. Almeida, J.S. Rodrigues, J.C.S. Oliveira, M.L. Fernandez, M. Bernardo-Filho. 2006b. The analysis of the effect of a chayotte extract on the radiolabeling of blood elements in diabetic rats. *Pakistan journal of nutrition* 5(3): 269-273.
- Diré, G.F., M.F.M.C. Coura, M.C.L. Almeida, S.D.D. Vasconcelos, P.R.A. Siqueira, M.R. Duarte, J.S. Rodrigues, J.C.S. Oliveira, M.L. Fernandez, M. Bernardo-Filho. 2007a. Study of the effects of chayotte (*Sechium edule*) extracts on the plasmid Puc. 9.1 DNA. *Plant pathology journal* 6(1): 72-76.
- Diré, G.F., J.C.S. Oliveira, S.D.D. Vasconcelos, P.R.A. Siqueira, M.R. Duarte, M.C.L. Almeida, J.S. Rodrigues, M.L. Fernandez, M. Bernardo-Filho. 2007b. Evaluation of the biological effects of a natural extract of chayotte (*Sechium edule*): a radiolabeling analysis. *International journal of pharmacology* 2(6): 637-642.
- Diré, G.F., J.S. Rodrigues, J.C.S. Oliveira, S.D.D. Vasconcelos, P.R.A. Siqueira, M.R. Duarte, M.C.L. Almeida, M.L. Fernandez, M. Bernardo-Filho. 2007c. Biological effects of a chayotte extract in wistar rats with induced diabetes: a radiopharmaceutically analysis. *Pakistan journal of biological sciences* 10(4): 568-574.
- Diré, G.F., P.R.A. Siqueira, M.R. Duarte, M.C.L. Almeida, J.S. Rodrigues, J.C.S. Oliveira, S.D.D. Vasconcelos, M.L. Fernandez, M. Bernardo-Filho. 2007d. The assessment of a fruit extract (*Sechium edule*) on the bioavailability of radiopharmaceutical sodium pertechnetate in wistar rats with diabetes induced by streptozotocin. *Journal of medical sciences* 7(4): 536-543.

- Diré, G.F., M.C.L. Almeida, M.F.M.C. Coura, S.D.D. Vasconcelos, P.R.A. Siqueira, M.R. Duarte, J.S. Rodrigues, J.C.S. Oliveira, M.L. Fernandez, M. Bernardo-Filho. 2007e. Effects of a chayotte (*Sechium edule*) extract (macerated) on the biochemistry of blood of *wistar* rats and on the action against the stannous chloride effect. Pakistan journal of biological sciences 10(5): 823-827.
- Domínguez, X. A. 1988. Métodos de investigación fitoquímica. Editorial Limusa. México. pp. 139.
- Dorai, T., B.B. Aggarwal. 2004. Role of chemopreventive agents in cancer therapy. Cancer letters 215: 129-140.
- Duncan, M.D., K.L.K. Duncan. 1997. Cucurbitacin E targets proliferating endothelia. Journal of surgical research 69: 55-60.
- Dzib, A.L.A., R. Beristáin, B. Rosete X. 1993. El cultivo del chayote (*Sechium edule* (Jacq. Sw.) en el municipio de Ixtaczoquitlán, Veracruz. Universidad Autónoma de Chapingo, Texcoco, Estado de México 41p.
- Eitel, K., H. Staiger, M.D. Brendel, D. Brandhorst, R.G. Bretzel, H.-U. Häring, M. Kellerer. 2002. Different role of saturated and unsaturated fatty acids in  $\beta$ -cell apoptosis. Biochemical and biophysical research communications 299: 853-856.
- Eitsuka, T., K. Nakagawa, T. Suzuki, T. Miyazawa. 2005. Polyunsaturated fatty acids inhibit telomerase activity in DLD-1 human colorectal adenocarcinoma cells: a dual mechanism approach. Biochimica et biophysica acta 1737: 1-10.
- Engels, J.M.M. 1983. Variation in *Sechium edule* in Central America. Journal american society horticultural science 108(5): 706-710.
- Farnsworth, N.R., O. Akerele, A.S. Bingel, D.D. Soejarto, Z. Guo. 1992. Las plantas medicinales en la terapéutica. /n: E. Estrada L. (ed.). Plantas medicinales de México, introducción a su estudio. 4ª edición. Universidad Autónoma Chapingo. México.
- Finstad, H.S., M.C.W. Myhrstad, H. Heimli, J. Lomo, H. Blomhoff, S.O. Kolset, C.A. Drevon. 1998a. Multiplication and death type of leukemia cell lines exposed to very long-chain polyunsaturated fatty acids. Leukemia 12: 921-929.



- Finstad, H.S., C.A. Drevon, M.A. Kulseth, A.V. Synstad, E. Knudsen, S.O. Kolset. 1998b. Cell proliferation, apoptosis, and accumulation of lipids droplets in U937-1 cells incubated with eicosapentaenoic acid. *Biochemical journal* 336: 451-459.
- Flick, G.J., F.S. Burnette, L.H. Aung, R.L. Ory, A.J.S. Angelo. 1978. Chemical composition and biochemical properties of mirlitons (*Sechium edule*) and purple, green, and white eggplants (*Solanum melongena*). *Journal of agricultural and food chemistry* 26(5): 1000-1005.
- Flores, E.M. 1989. El chayote, *Sechium edule* Swartz (Cucurbitaceae). *Revista de biología tropical* 37(1):1-54.
- Fujioka, T., K. Yoshida, H. Shibato, T. Nagao, M. Yoshida, K. Matsunaga, J. Takata, Y. Karube, Y. Iwase, H. Okabe, K. Mihashi. 2006. Antiproliferative constituents from Umbelliferae plants. IX.<sup>1)</sup> new triterpenoid glycosides from the fruits of *Bupleurum rotundifolium*. *Chemical and pharmaceutical bulletin* 54(12): 1694-1704.
- Ghisalberti, E.L. 1993. Detection and isolation of bioactive natural products. pp. 10-52. *In*: S.M. Colegate, R.J. Molyneux (eds.). *Bioactive natural products. Detection, isolation and structural determination*. CRC Press. London.
- Gibbons, S., A.I. Gray. 1998. Isolation by planar chromatography. pp. 209-235. *In*: R.J.P. Canell (ed.). *Methods in biotechnology*, vol. 4: natural products isolation. Humana press Inc., Totowa, New Jersey.
- Gilbert, J.C., S.F. Martin. 1998. *Experimental organic chemistry* 2<sup>a</sup> edición. Saunders college publishing USA pp. 87-95.
- Gómez-Lechón, M.J., T. Donato, A. Martínez-Romero, N. Jiménez, J.V. Castell, J.-E. O'Connor. 2007. A human hepatocellular *in vitro* model to investigate steatosis. *Chemico-biological interactions* 165: 106-116.
- González-Laredo, R.F., M.G. Reyes-Navarrete, A.M. Preza y Lerma, M. Rosales-Castro, J. Morales-Castro, J.A. Gallegos-Infante, N.E. Rocha-Guzmán. 2007. Evaluación del efecto antioxidante y quimioprotector de extractos fenólicos de semillas de manzana. *Grasas y aceites* 58(1): 5-9.
- Gordon E.A., Guppy L.J., Nelson M. 2000. The antihypertensive effects of the Jamaican Cho-Cho (*Sechium edule*). *The west indian medical journal* 49(1): 27-31.

- Halaweish, F.T. 1993. Cucurbitacins from *Cucurbita texana*: evidence for the role of isocucurbitacins. *Journal of chemical ecology* 19(1): 29-37.
- Hardman, W.E. 2002. Omega-3 Fatty Acids to Augment Cancer Therapy. *Journal of nutrition* 132: 3508S-3512S.
- Hawkins, R.A., M.J. Sangster, M.J. Arends. 1998. Apoptotic death of pancreatic cancer cells induced by polyunsaturated fatty acids varies with double bond number and involves Na oxidative mechanism. *The journal of pathology* 185(1): 61-70.
- Heinrich, M. 2000. Ethnobotany and its role drug development. *Phytotherapy research* 14: 479-488.
- Hernández, X. E. 1985. *Biología agrícola* CECSA. México 66p.
- Hofmanová, J., A. Vaculová, A. Kozubík. 2005. Polyunsaturated fatty acids sensitize human colon adenocarcinoma HT-29 cells to death receptor-mediated apoptosis. *Cancer letters* 218: 33-41.
- Hostettmann, K., A. Marston, J.L. Wolfender. 1995. Strategy in the search for new biologically active plant constituents. 37: 17-45. *In: K. A. Hostettmann, A. Marston, M. Millard, M. Hamburger (eds.). Phytochemistry of plants used in traditional medicine.* Oxford science publications, Oxford.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática [INEGI]. 2007. Estadísticas a propósito del día de muertos. Datos nacionales. Disponible en línea: [www.inegi.gob.mx/lib/buscadore]. Fecha de consulta 3 de enero de 2008.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática [INEGI]. 2008. Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer. Datos nacionales. Disponible en línea: [www.inegi.gob.mx/lib/buscadore]. Fecha de consulta 3 de enero de 2008.
- Instituto Nacional del Cáncer [INC]. 2008. El cáncer: preguntas y respuestas Hoja informativa 6.7s. Disponible en línea [http://www.cancer.gov/publications]. Fecha de consulta 3 de enero de 2008.
- Ito A, H.-B. Chai, D. Lee, L.B.S. Kardono, S. Riswan, N.R. Farnsworth, G.A. Cordell, J.M. Pezzuto, A.D. Kinghorn. 2002. Ellagic acid derivatives and cytotoxic cucurbitacins of *Elaeocarpus mastersii*. *Phytochemistry* 61:171-174.

- Jacobs, H., T. Singh, W.F. Reynolds, S. McLean. 1990. Isolation and <sup>13</sup> C-NMR assignments of cucurbitacins from *Cayaponia angustiloba*, *Cayaponia racemosa* and *Gurania subumbellata*. Journal of natural products 53(6): 1600-1605.
- Jayaprakasam, B., N.P. Seeram, M.G. Nair. 2003. Anticancer and anti-inflammatory activities of cucurbitacins from *Cucurbita andreana*. Cancer letters 189: 11-16.
- Jensen, L.P., Lai A.R. 1986. Chayote (*Sechium edule*) causing hypokalemia in pregnancy. American journal of obstetrics and gynecology 155(5): 1048-1049.
- Jiménez-Hernández, J., J.A. Salazar-Montoya, E.G. Ramos-Ramírez. 2007. Physical, chemical and microscopic characterization of a new starch from chayote (*Sechium edule*) tuber and its comparison with potato and maize starches. Carbohydrate polymers 68: 679-686.
- Kharroubi, I., L. Ladrie, A.K Cardozo, Z. Dogusan, M. Cnop, A.D. Eizirik. 2004. Free fatty acids and cytokines induce pancreatic  $\beta$ -cell apoptosis by different mechanisms: role of nuclear factor- $\kappa$ B and endoplasmic reticulum stress. Endocrinology 145(11): 5087-5096.
- Khuda-Bukhsh, A.R. 2003. Towards understanding molecular mechanisms of action of homeopathic drugs. Molecular and cellular biochemistry 253: 339-345.
- Kim, D.-H., J.-T. Lee, I.-K. Lee, J.-H. Ha. 2008. Comparative anticancer effects of flavonoids and diazepam in cultured cancer cells. Chemical and pharmaceutical bulletin 31(2): 255-259.
- Konopa, J.; J. Zielinski y A. Matuszkiewicz. 1974a. Cucurbitacins, cytotoxic and antitumor substances from *Bryonia alba* L. part I: isolation and identification. Arzneimittel-forschung-drug research 24(10): 1554-1557.
- Konopa, J.; A. Matuszkiewicz y M. Hrabowska. 1974b. Cucurbitacins, cytotoxic and antitumor substances from *Bryonia alba* L. part II: biological studies. Arzneimittel-forschung-drug research 24(11):1741-1743.
- Kueng, W., E. Silver, V. Eppnberg. 1989. Quantification of cell cultured on 96-wells plates. Analytical biochemistry 186: 16-19.
- Kuklinski, C. 2000. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Editorial Omega. Barcelona pp: 32-45.

Kupchan, S.M., C.W. Sigel, L. J. Restivo, R.F. Bryan. 1972. Datiscoside, a novel antileukemic cucurbitacin glycoside form *Datisca glomerata*. Journal of the American chemical society 94(4): 1353-1354.

Kupchan, S.M., G. Tsou, C.W. Sigel. 1973. Datisceacin, a novel cytotoxic cucurbitacin 20-acetate from *Datisca glomerata*. The journal of organic chemistry 38(7): 1420-1421.

La Jornada. "Cada año mueren de cáncer 61 mil mexicanos: INEGI" por Ángeles Cruz Martínez. Viernes 3 de febrero de 2006. Sección: sociedad y justicia. Disponible en línea: [<http://www.jornada.unam.mx/2006/02/03/048n3soc.php>]. Fecha de consulta 3 de enero de 2008.

Lavie, D., E. Glotter. 1971. The cucurbitanes, a group of tetracyclic triterpenes. Fortschritte der chemie organischer naturstoffe. Progress in the chemistry of organic natural products. Springer-Verlag, New York. 29: 306-364.

Lawrence, T. 2007. Inflammation and cancer: a failure of resolution?. Trends in pharmacological sciences 28(4): 162-165.

Lee, I., J.-K. Yoo, M. Na, B.-S. Min, J. Lee, B.-S. Yun, W. Jin, H. Kim, U. Youn, Q.-C. Chen, K.-S. Song, Y.-H. Seong, K. Bae. 2007. Cytotoxicity of triterpenes isolated from *Aceriphyllum rossii*. Chemical and pharmaceutical bulletin. 55(9): 1376-1378.

Li, D.W., E.B. Lee, S.S. Kang, J.E. Hyun, W.K. Whang. 2002. Activity-guided isolation of saponins from *Kalopanax pictus* with anti-inflammatory activity. Chemical and pharmaceutical bulletin. . 50(7): 900-903.

Li, D., T. Ikeda, T. Nohara, J. Liu, Y. Wen, T. Sakamoto, G. Nonaka. 2007a. Cucurbitane glycosides from unripe fruits of *Siraitia grosvenori*. Chemical and pharmaceutical bulletin 55(7): 1082-1086.

Li, H., L.-J. Wang, G.-F. Qiu, J.-Q. Yu, S.-C. Liang, X.-M. Hu. 2007b. Apoptosis of HeLa cells induced by extract from *Crematodium humile*. Food and chemical toxicology 45: 2040-2046.

Lima, T.M., C.C. Kanufre, C. Pompeia, R. Verlengia, R. Curi. 2002. Ranking the toxicity of fatty acids on Jurkat and Raji cells by flow cytometric analysis. Toxicology in vitro 16:741-747.

- Lin, E.Y., V Gouon-Evans, A.V. Nguyen, J.W. Pollard. 2002. The macrophage growth factor CSF-1 in mammary gland development and tumor progression. *Journal of mammary gland biology and neoplasia* 7(2): 147-162.
- Lira-Saade, R. 1996. Chayote *Sechium edule* (Jacq.) Sw. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. International plant genetic resources institute. Roma, Italia 58p.
- Lira-Saade, R., J. Caballero. 2002. Ethnobotany of the wild mexican Cucurbitaceae. *Economic botany* 56(4): 380-398.
- Listenberg, L.L., D.S. Ory, J.E. Schaffer. 2001. Palmitate-induced apoptosis can occur through a ceramide-independent pathway. *The journal of biological chemistry* 276(18): 14890-14895.
- Liu, L.-Z., J. Fang, Q. Zhou, X. Hu, X. Shi, B.-H. Jiang. 2005. Apigenin inhibits expression of vascular endothelial growth factor and angiogenesis in human lung cancer cells: implication of chemoprevention of lung cancer. *Molecular pharmacology* 68(3): 635-643.
- Liu, R.H. 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *Journal of nutrition* 134: 3479S-3485S.
- López-Pérez, J. L.; R. Therón; E. del Olmo y D. Díaz. 2007. NAPROC-13: a database for the dereplication of natural product mixtures in bioassay-guided protocols. *Bioinformatics* 23(23): 3256-3257.
- Lozoya, X. 1980. Mexican medicinal plants used for treatment of cardiovascular diseases. *The american journal of chinese medicine* VIII: 86-95.
- Lu, Z.-H., Y.-M. Mu, B.-A. Wang, X.-L. Li, J.-M. Lu, J.-Y. Li, C.-Y. Pan, T. Yanase, H. Nawata. 2003. Saturated free fatty acids, palmitic acid and stearic acid, induce apoptosis by stimulation of ceramide generation in rat testicular Leydig cell. *Biochemical and biophysical research communications* 303: 1002-1007.
- MacLeod, G. 1990. Volatile components of chayote. *Phytochemistry* 29(4): 1197-1200.

- Mak, P., Y.-K. Leung, W.-Y. Tang, C. Harwood, S.-M. Ho. 2006. Apigenin suppresses cancer cell growth through ER  $\beta^1$ . *Neoplasia* 8(11): 896-904.
- Maliépaard, M. 1996. Mitosenes and related antitumor drugs: rational design of cytostatic agents. Chapman and Hall, New York. pp. 3-5.
- Mans, D.R.A., A.B. da Rocha, G. Schwartzmann. 2000. Anti-cancer drug discovery and development in Brazil: targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anti-cancer compounds. *Oncologist* 5: 185-198.
- Manson, M.M., B.E. Foreman, L.M. Howells, E.P. Moiseeva. 2007. Determining the efficacy of dietary phytochemicals in cancer prevention. *Biochemical society transactions* 35: 1358-1363.
- Marx, J. 2004. Inflammation and cancer: the link grows stronger. *Science* 306: 966-968.
- Matsubara, K., A. Saito, A. Tanaka, N. Nakajima, R. Akagi, M. Mori, Y. Mizushima, 2007. Epicatechin conjugated with fatty acid is a potent inhibitor of DNA polymerase and angiogenesis. *Life sciences* 80: 1578-1585.
- Melita-Rodríguez, S., H. Acosta, C. Barroso. 1984. Diuretic effect of chayote juice (*Sechium edule*) in rats. *Revista médica de Panamá* 9(1): 68-74.
- Menéndez J.A., M. del Mar Barbacid, S. Montero, E. Sevilla, E. Escrich, M. Solanas, H. Cortés-Funes, R. Colomer. 2001. Effects of gamma-linolenic acid and oleic acid on paclitaxel cytotoxicity in human breast cancer cells. *European journal of cancer* 37: 402-413.
- Meng, D.-H. Y.-P. Xu, W.-L. Chen J. Zou, L.-G. Lou, W.-M. Zhao. 2007. Anti-tumour clerodane-type diterpenes from *Mitrephora thorelii*. *Journal of asian natural products research* 9(7): 679-84.
- Mengeaud, V., J.L. Nano, S. Fiurnel, P. Rampal. 1992. Effects of eicosapentaenoic acid, gamma-linolenic acid and prostaglandin E1 on three human colon carcinoma cell lines. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids* 47: 313-319.

- Modgil, R., M. Modgil. 2004. Effect of feeding chayote (*Sechium edule*) and bottle gourd (*Lagenaria siceraria*) as source of fiber on biological utilization of diet in rats. *Journal of human ecology* 15(2): 109-111.
- Modgil, M., R. Modgil, R. Kumar. 2004. Carbohydrate and mineral content of chayote (*Sechium edule*) and bottle gourd (*Lagenaria siceraria*). *Journal of human ecology* 15(2): 157-159.
- Mu, Y.M., T. Yanase, Y. Nishi, A. Tanaka, M. Saito, C.H. Jin, C. Mukasa, T. Okabe, M. Nomura, K. Goto, H. Nawata. 2001. Saturated FFAs, palmitic acid and stearic acid, induce apoptosis in human granulosa cells. *Endocrinology* 142(8): 3590-3597.
- Newstrom, L.E. 1991. Evidence for the origin of chayote, *Sechium edule* (Cucurbitaceae). *Economic botany* 453: 410-428.
- Noguchi, M., M. Earashi, M. Minami, K. Kinoshita, I. Myazaki. 1995. Effects of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid on cell growth and prostaglandin E and leukotriene B production by human breast cancer cell line (MDA-MB-231). *Oncology* 52: 458-464.
- Oberlies, N.H., J.P. Burgess, H.A. Navarro, R.E. Pinos, D.D. Soejarto, N.R. Farnsworth, A.D. Kinghorn, M.C. Wani, M.E. Wall. 2001. Bioactive constituents of the roots of *Licania intrapetiolaris*. *Journal of natural products* 64: 497-501.
- Ohashi, K., H. Winarno, M. Mukai, H. Shibuya. 2003. Preparation and cancer cell invasion inhibitory effects of C16-alkynic fatty acids. *Chemical and pharmaceutical bulletin* 51(4): 463-466.
- Oliveira, P.A., A. Colaço, R. Chaves, H. Guedes-Pinto, L.F. De-La-Cruz, C Lopes. 2007. Chemical carcinogenesis. *Anais da academia brasileira de ciências* 79(4): 593-616.
- Onuki, Y., M. Morishita, Y. Chiba, S. Tokiwa, K. Takayama. 2006. Docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid induce changes in the physical properties of a lipid bilayer model membrane. *Chemical and pharmaceutical bulletin* 54(1): 68-71.
- Ordoñez, A.A.L., J.D. Gomez, N.M. Cudmani, M.A. Vattuone, M.I. Isla. 2003. Antimicrobial activity of nine extracts of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz. *Microbial ecology in health and disease* 15(1): 33-39.

- Ordoñez, A.A.L., J.D. Gomez, M.A. Vattuone, M.I Isla. 2006. Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. Food chemistry 97: 452-458.
- Organización Mundial de la Salud. 2006 [OMS]. Cáncer. Nota descriptiva No. 297. Disponible en línea [<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>]. Fecha de consulta 3 de enero de 2008.
- Ortega-Paczka, R., M.A. Martínez-Alfaro, G. Rincón-Enríquez. 1998. Principales cultivos de México y sus regiones mundiales de mayor diversidad XVII Congreso de fitotecnia. Memoria de la Sociedad Mexicana de Fitogenética. Acapulco, México pp.321.
- Ostrander, D.B., G.C. Sparagna, A.A. Amoscato, J.B. McMillin, W. Dowhan. 2001. Decreased cardiopilin synthesis corresponds with cytochrome c release in palmitate-induced cardiomyocyte apoptosis. The journal of biological chemistry 41(12): 38061-38067.
- Othman, R., H. Ibrahim, M.A. Mohd, M.R. Mustafa, K. Awang. 2006. Bioassay-guided isolation of a vasorelaxant active compound from *Kaempferia galena* L. Phytomedicine 13: 61-66.
- Otton, R., R. Curi. 2005. Toxicity of a mixture of fatty acids on human blood lymphocytes and leukaemia cell lines. Toxicology in vitro 19: 749-755.
- Otuki, M.F., F. Vieira-Lima, A. Malheiros, R.A. Yunes, J.B. Calixto. 2005. Topical antiinflammatory effects of the ether extract from *Protium kleinii* and  $\alpha$ -amyryn pentacyclic triterpene. European journal of pharmacology 507(1): 253-259.
- Pandalai, P.K., M.J. Pilat, K. Yamazaki, H. Naik, K.J. Pienta. 1996. The effects of omega-3 and omega-6 fatty acids on in vitro prostate cancer growth. Anticancer research 16: 815-820.
- Pardee, A.B. 1988. Principios biológicos del cáncer: bioquímica y biología celular. pp. 3-18. *En: V.T. de Vita, S. Hellman, S.S. Rosenberg* (eds.). Cáncer. Principios y prácticas de oncología 2ª edición, tomo I. Salvat. Barcelona.
- Pardini, R.S. 2006. Nutritional intervention with omega-3 fatty acids enhances tumor response to anti-neoplastic agents. Chemico-biological interactions 162: 89-105.



- Pate, R., R. Garg, S. Erande, G.B. Maru. 2007. Chemopreventive herbal anti-oxidants: current status and future perspectives. *Journal of clinical biochemistry and nutrition* 40: 82-91.
- Peña, A. 1988. *Bioquímica 2ª edición*. Ed. Limusa. México pp 49-63.
- Peralta-Zaragoza, O., M. Bahena-Román, C.E. Díaz-Benítez, V. Madrid-Marina. 1997. Regulación del ciclo celular y desarrollo de cáncer: perspectivas terapéuticas. *Salud pública de México* 39(5): 451-462.
- Pezzuto, J.M. 1997. Plant-derived anticancer agents. *Biochemical pharmacology* 53: 121-133.
- Pinto, S.A.H., L.M.S. Pinto, M.A. Guedes, G.M.A. Cunha, M.H. Chaves, F.A. Santos, V.S. Rao. 2007. Antinociceptive effect of triterpenoid  $\alpha$ ,  $\beta$ -amyryn in rats on orofacial pain induced by formalin and capsaicin. *Phytomedicine*  
DOI:10.1016/j.phymed.2007.11.016
- Pompeia, C., J.J. Freitas, J.S. Kim, S.B. Zyngier, R. Curi. 2002. Arachidonic acid cytotoxicity in leukocytes: implications of oxidative stress and eicosanoid synthesis. *Biologie cellulaire* 94(4-5): 251-265.
- Rakatzi, I., H. Mueller, O. Ritzler, N. Tennagels, J. Eckel. 2005. Adiponectin counteracts cytokine and fatty acid-induced apoptosis in the pancreatic beta-cell line INS-1. *Diabetologia* 47: 249-258.
- Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas [RHNM]. 2001. La situación epidemiológica en México. Disponible en línea: [http://www.dgepi.salud.gob.mx/divent/RHNM.htm]. Fecha de consulta 3 de enero de 2008.
- Ribeiro, R.deA., F. de Barros, M.M.R. Fiuza de Melo, C. Muniz, S. Chieia, G. Wanderley, C. Gomes, G. Trolin. 1988. Acute diuretic effects in conscious rats, produced by some medicinal plants used in the state of Sao Paulo, Brasil. *Journal of ethnopharmacology* 24: 9-29.
- Rose, D.P., J.M. Connolly. 1991. Effects of fatty acids and eicosanoid synthesis inhibitors on the growth of two human prostate cancer cell lines. *Prostate* 18: 243-254.

- Rzedowski, J. 1991. Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. Acta botánica mexicana 14: 3-21.
- Rzedowski, J. 1995. Aspectos de las plantas ornamentales mexicanas. Chapingo, serie: Horticultura 1(3): 5-7.
- Sagar, P.S., U.N. Das, R. Koratkar, G. Ramesh, M. Padma, G.S. Kumar. 1992. Cytotoxic action of cis-unsaturated fatty acids on human cervical carcinoma (HeLa) cells: relationship to free radicals and lipid peroxidation and its modulation by calmodulin antagonists. *Cancer letters* 63(3): 189-198.
- Salama, A.M., A.E. Polo, C.R. Contretas, L. Maldonado. 1986. Analisis fitoquímico preliminar y determinación de las actividades antiinflamatoria y cardiaca de los frutos de *Sechium edule*. Revista colombiana de ciencias químico-farmacéuticas 15: 79-82.
- Salama, A.M., H. Achenbach, M. Sánchez-López, M. Gutiérrez. 1987a. Aislamiento e identificación de glicósidos antiinflamatorios de los frutos de *Sechium edule*. Revista colombiana de ciencias químico-farmacéuticas 16: 15-16.
- Salama, A.M., M. Sánchez-López, M. Gutiérrez, H. Achenbach. 1987b. Antiinflammatory and cardioactive glucosides from *Sechium edule*. Revista latinoamericana de química 18(3): 132-133.
- Salama, A.M., O. Orozco, A.C. Angel, S.X. Urrea. 1999. Citotoxicidad, actividad antitumoral y análisis fitoquímico de *Cucumis dipsaceus*. Revista colombiana de ciencias químico-farmacéuticas 28: 33-39.
- Salganik, R.I. 2001. The benefits and hazards of antioxidants: controlling apoptosis and other protective mechanisms in cancer patients and the human population. Journal of the american college of nutrition 20(5): 464S-472S.
- Salituro, G.M., C. Dufresne. 1998. Isolation by low-pressure column chromatography. pp. 111-143. //: R.J.P. Canell (ed.). Methods in biotechnology, vol. 4: natural products isolation. Humana press Inc., Totowa, New Jersey.
- Sarkar, F.H., Y. Li. 2004. Cell signaling pathways altered by natural chemopreventive agents. Mutation research 555: 53-64.

- Schonberg, S.A., F. Skorpen. 1997. Paracetamol counteracts docosahexaenoic acid-induced growth inhibition of A-427 lung carcinoma cells and enhances tumor cell proliferation *in vivo*. Anticancer research 17: 2443-2448.
- Seifried, H.E., S.S. McDonald, D.E. Anderson, P. Greenwald, J.A. Milner. 2003. The antioxidant conundrum in cancer. Cancer research 63: 4295-4298.
- Setzer, W.N., M.C. Setzer. 2003. Plant-derived triterpenoids as potential antineoplastic agents. Mini reviews in medicinal chemistry 3(6): 540-556.
- Shankland, N., A.J. Florence, R.J.P. Canell. 1998. Crystallization and final stages of purification. pp. 261-278. *In*: R.J.P. Canell (ed.). Methods in biotechnology, vol. 4: natural products isolation. Humana press Inc., Totowa, New Jersey.
- Shoeb, M. 2006. Anticancer agents from medicinal plants. Bangladesh journal pharmacology 1: 35-41.
- Siciliano, T., N. de Tommasi, I. Morelli, A. Braca. 2004. Study of Flavonoids of *Sechium edule* (Jacq) Swartz (Cucurbitaceae) different edible organs by liquid chromatography photodiode array mass spectrometry. Journal of agricultural and food chemistry 52: 6510-6515.
- Siddiqui, R.A., L.J. Jenks, K. Neff, K. Harvey, R.J. Kovacs, W. Stillwell. 2001. Docosahexaenoic acid induces apoptosis in Jurkat cells by a protein phosphatase-mediated process. Biochimica et biophysica acta 1499: 265-275.
- Simirgiotis, M.J., S. Adachi, S.To, H. Yang, K.A. Reynertson, M.J. Basile, R.R. Gil, I.B. Weinstein, E.J. Kennelly. 2008. Cytotoxic chalcones and antioxidants from the fruits of *Syzygium samarangense* (Wax Jambu). Food chemistry 107(2): 813-819.
- Soldi, C., M.G. Pizzolatti, A.P. Luiz, R. Marcon, F.C. Meotti, L.A. Mioto, A.R.S. Santos. 2008. Synthetic derivatives of the  $\alpha$ - and  $\beta$ -amyrin triterpenes and their antinociceptive properties. Bioorganic and medicinal chemistry 16(6): 3377-3386.
- Sparagna, G., D. Hickson-Bick, L. Buja, J. McMillin. 2000. A metabolic role for mitochondria in palmitate-induced cardiac myocyte apoptosis. American journal of physiological heart circulation physiology 279: H2124-H2132.

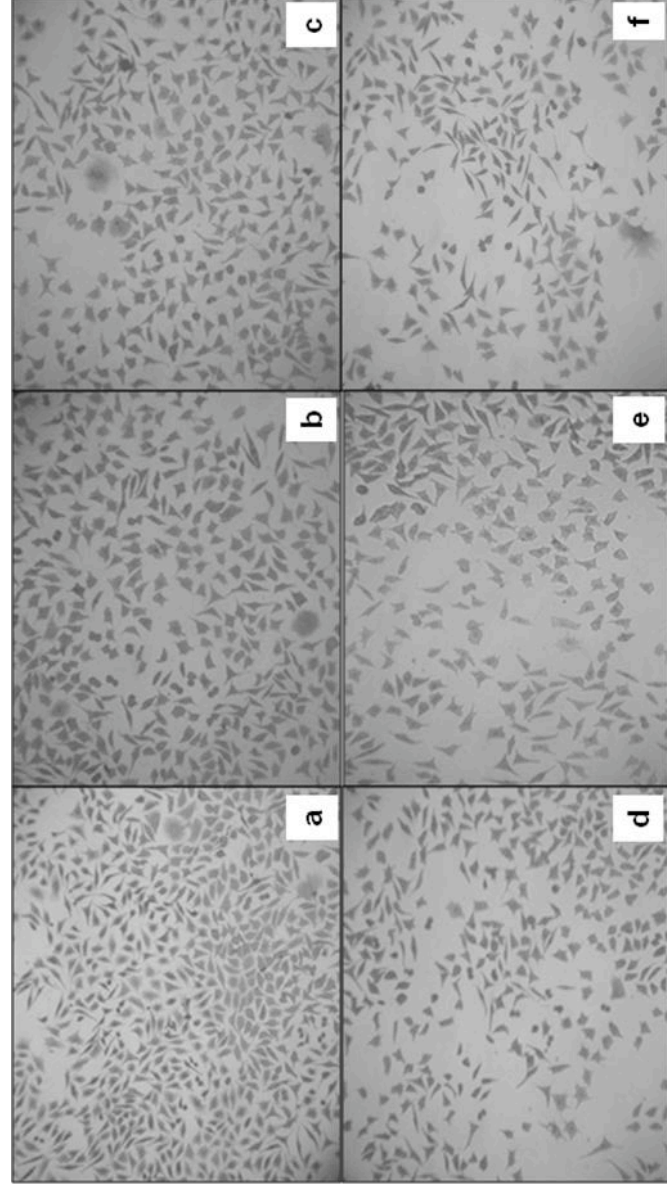
- Sun, J., M.A. Blaskovich, R. Jove, S.K. Livingston, D. Coppola, S.M. Sebt. 2005. Cucurbitacin Q: a selective STAT3 activation inhibitor with potent antitumor activity. *Oncogene* 24: 3236-32454.
- Sun, S.-Y., N. Hail, R. Lotan. 2004. Apoptosis as a novel target for cancer chemoprevention. *Journal of the national cancer institute* 96(9): 662-672.
- Szczepiorowski, Z.M., G.R. Dickersin, M. Laposata. 1995. Fatty acid ethyl esters decrease human hepatoblastoma cell proliferation and protein synthesis. *Gastroenterology* 108: 515-522.
- Takeara R., P.C. Jimenez, D. Veras W., M.O. de Moraes, C. Pessoa, N. Peoporine L., J.L. Callegari L., T.M. da Cruz L., L. Veras C.-L. 2007. Antileukemic effects of *Didemnum psammatoles* (Tunicata: Ascidiacea) constituents. *Comparative biochemistry and physiology, part A: molecular and integrative physiology* DOI:10.1016/j.cbpa.2007.02.011.
- Takemoto, D.J., C. Dunford, M.M. McMurray. 1982. The cytotoxic and cytostatic effects of the bitter melon (*Momordica charantia*) on human lymphocytes. *Toxicol* 20(3): 593-599.
- Tallamy, D.W., V.A. Krischik. 1989. Variation and function of cucurbitacins in Cucurbita: an examination of current hypotheses. The american naturalist 133(6): 766-786.
- Tian, X.-Y., Y.-H. Wang, H.-Y. Liu, S.-S. Yu, W.-S. Fang. 2007. On the chemical constituents of *Dipsacus asper*. *Chemical and pharmaceutical bulletin*. 55(12): 1677-1681.
- Trosko, J.E. 2003. The role of stem cells and gap junctional intercellular communication in carcinogenesis. *Journal of biochemistry and molecular biology* 36(1): 43-48.
- Ukiya, M., T. Akihisa, H. Tokuda, M. Toriumi, T. Mukainaka, N. Banno, Y. Kimura, J.-I. Hasegawa, H. Nishino. 2002. Inhibitory effects of cucurbitane glycosides and other triterpenoids from the fruit of *Momordica grosvenori* on Epstein-Barr virus early antigen induced by tumor promoter 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Journal of agricultural and food chemistry* 50: 6710-6715.
- Vega-Ávila, E., R. Velasco-Lezama, M. Jiménez-Estrada. 2006. Las plantas como fuentes de compuestos antineoplásicos. *Bioquimia* 31(3): 97-111.

- Verma, M., S.K. Singh, S. Bhushan, V.K. Sharma, P. Datt, B.K. Kapahi, A.K. Saxena. 2008. In vitro cytotoxic potential of *Polyalthia longifolia* on human cancer cell lines and induction of apoptosis through mitochondrial-dependent pathway in HL-60 cells. *Chemico-biological interactions* 171(1): 45-56.
- Wagner, H., S. Bladt. 1996. Plant drugs analyses, a thin layer chromatography atlas second Edition. Springer, Alemania pp: 94-96.
- Wang D-C., H. Xiang, D. Li, H. Gao, H. Cai, L.-J. Wu, X.-M. Deng. 2008. Purine-containing cucurbitane triterpenoids from *Cucurbita pepo* cv. *dayangua*. *Phytochemistry* [DOI:10.1016/j.phytochem.2008.01.019](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.01.019)
- Watada, A.E., R.C. Hener, A.A. Kader, R.J. Romani, G.L. Staby. 1984. Terminology for the description of developmental stages of horticultural crops. *Hortscience* 19(1): 20-21.
- Willett, W.C. 1997. Nutrition and cancer. *Salud pública Mexicana* 39: 298-309.
- Wu, P.-L., F.-W. Lin, T.-S. Wu, C.-S. Kuoh, K.-H. Lee, S.-J. Lee. 2004. Cytotoxic and anti-HIV principles from the rhizomes of *Begonia nantoensis*. *Chemical and pharmaceutical bulletin* 52(3):345-349.
- Wu, S.-J., T.-S.Wu. 2006. Cytotoxic arylnaphthalene lignans from *Phyllanthus oligospermus*. *Chemical and pharmaceutical bulletin* 54(8): 1223-1225.
- Wu, T.H., L.P. Chow, J. Y. Lin. 1998. Sechiumin, a ribosome-inactivating protein from the edible gourd, *Sechium edule* Swartz-purification, characterization, molecular cloning and expression. *Chemical and pharmaceutical bulletin* 255: 400-408.
- Yen, G.C., H.Y. Chen, H.H. Peng. 2001. Evaluation of the cytotoxicity, mutagenicity and antimutagenicity of emerging edible plants. *Food and chemical toxicology* 39: 1045-1053.
- Yoo, Y.-C., B.-H. Shin, J.-H. Hong, J. Lee, H.-Y. Chee, K.-S. Song, K.-B. Lee. 2007. Isolation of fatty acids with anticancer activity from *Protoetia brevitarsis* larva. *Archives of pharmacal research* 30(3): 361-365.

Yu, L., M. Zhao, J. Wang, C. Cui, B. Yang, Y. Jiang, Q. Zhao. 2008. Antioxidant, immunomodulatory and anti-breast cancer activities of phenolic extract from pine (*Pinus massoniana* Lamb) bark. Innovative food science and emerging technologies 9(1): 122-128.

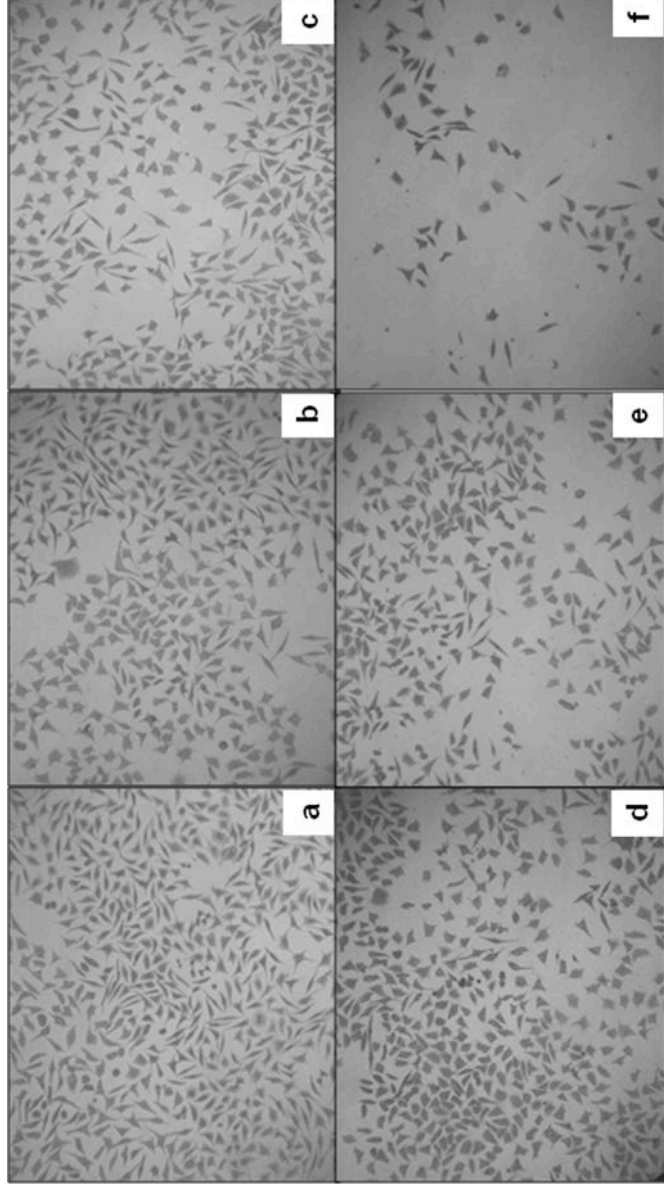
Zocher, D.H.T., M.R. de M.B. Borin, O.R. Gottlieb. 1998. Chemical mapping of Dilleniidae. Anais da Academia Brasileira de Ciencias 70: 711-717.

Apéndice 1. Efecto de los extractos crudos sobre la proliferación de las líneas tumorigénicas L-929 y HeLa.



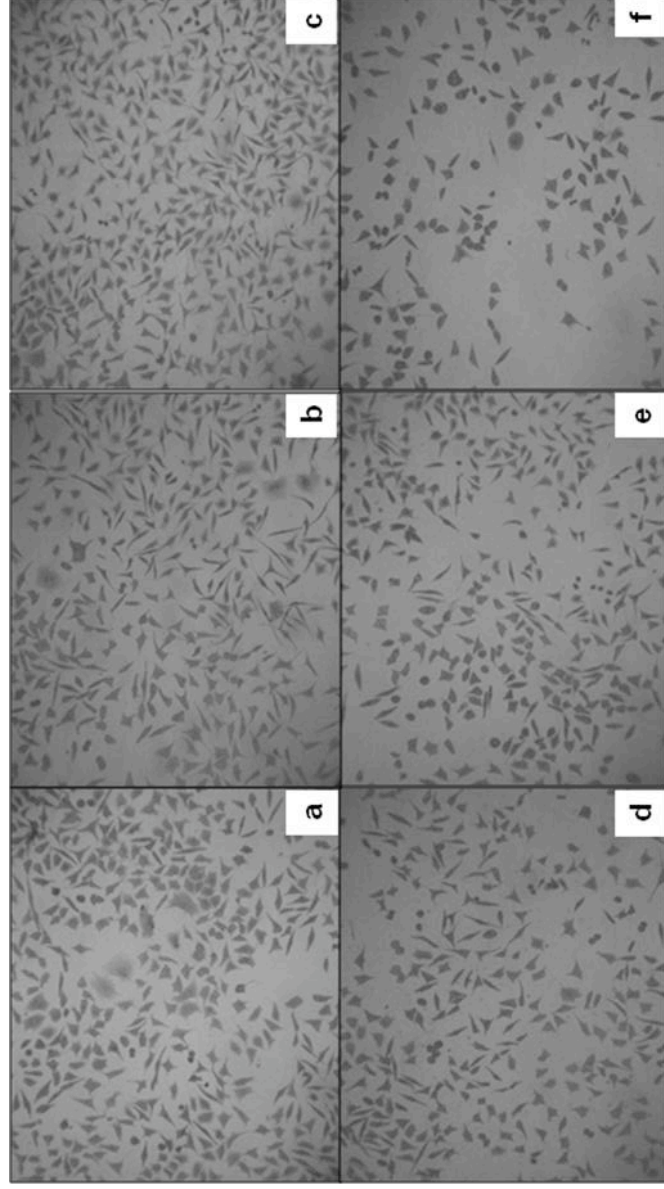
N. Sosa

1. Efecto del extracto acuoso sobre la proliferación de L-929. a: 0, b: 0.047, c: 0.23, d: 0.47, e: 1.18, f: 2.37  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Fotografías de un microscopio óptico a 10x.



N. Sosa

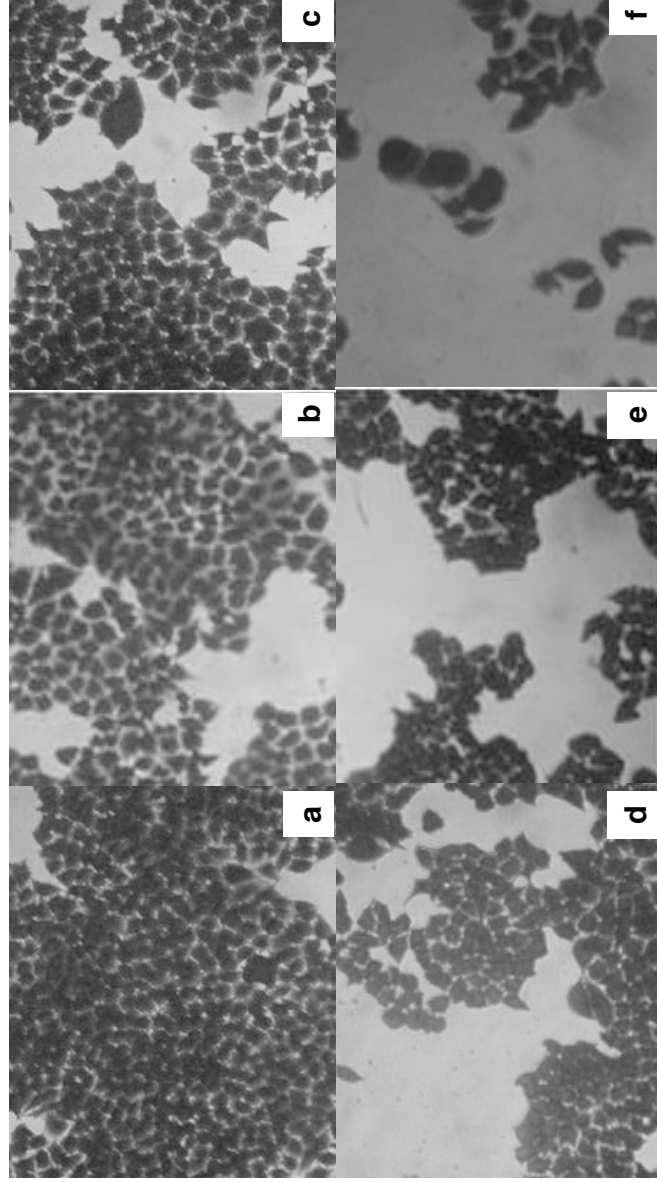
2. Efecto del extracto etanólico sobre la proliferación de L-929. a: 0, b: 0.047, c: 0.23, d: 0.47, e: 1.18, f: 2.37  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Fotografías de un microscopio óptico a 10x.



N. Sosa

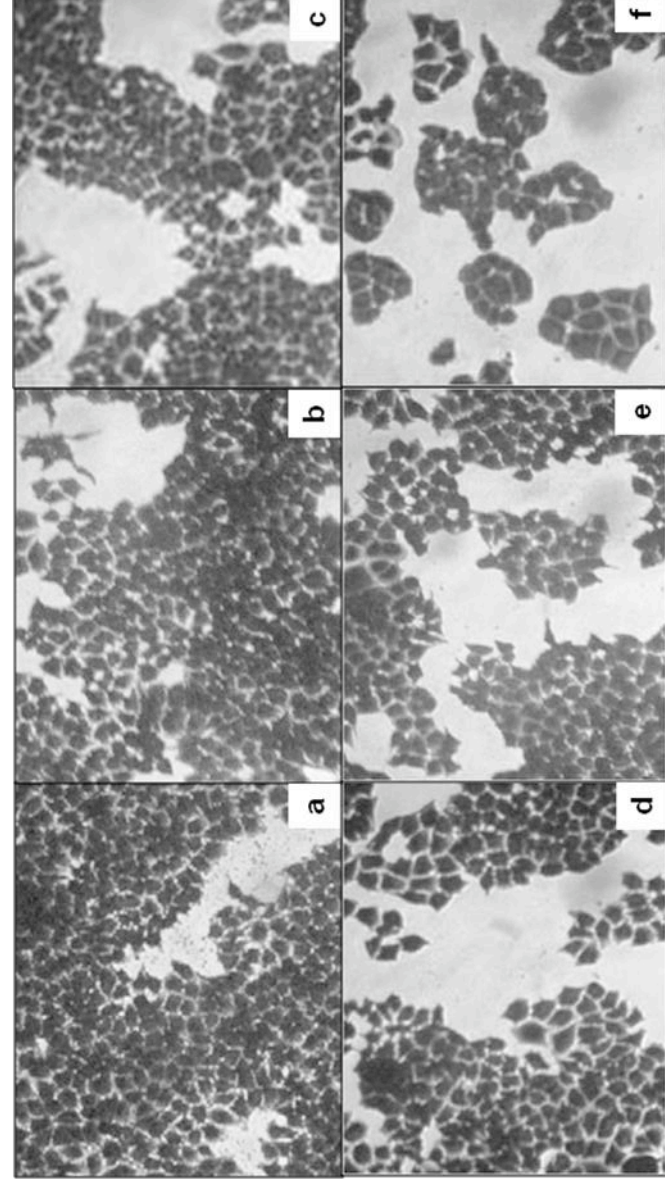
3. Efecto del extracto metanólico sobre la proliferación de L-929. a: 0, b: 0.047, c: 0.23, d: 0.47, e: 1.18, f: 2.37  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Fotografías de un microscopio óptico a 10x.





N. Sosa

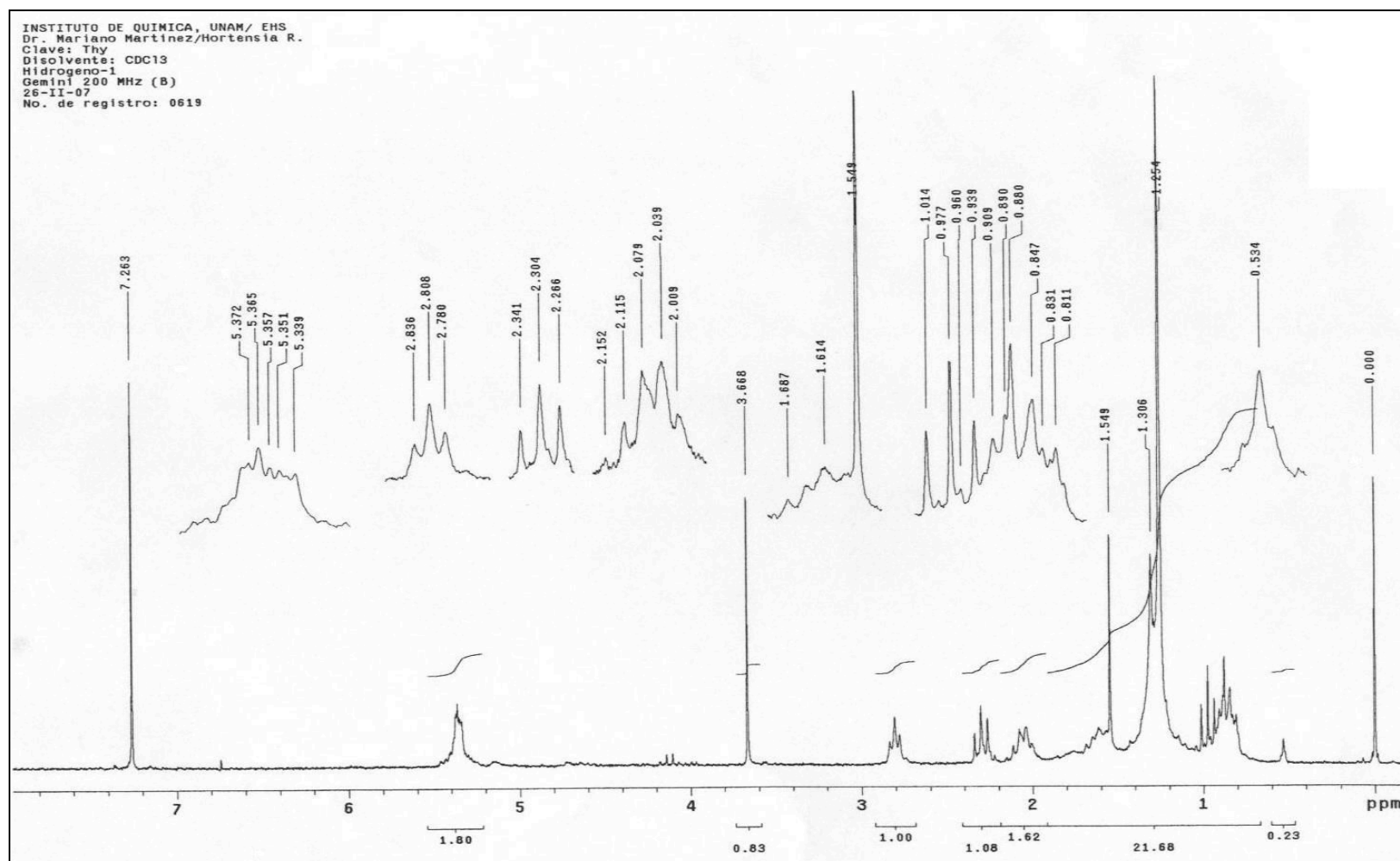
4. Efecto del extracto etanólico sobre la proliferación de HeLa. a: 0, b: 0.047, c: 0.23, d: 0.47, e: 1.18, f: 2.37  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Fotografías de un microscopio óptico a 10x.



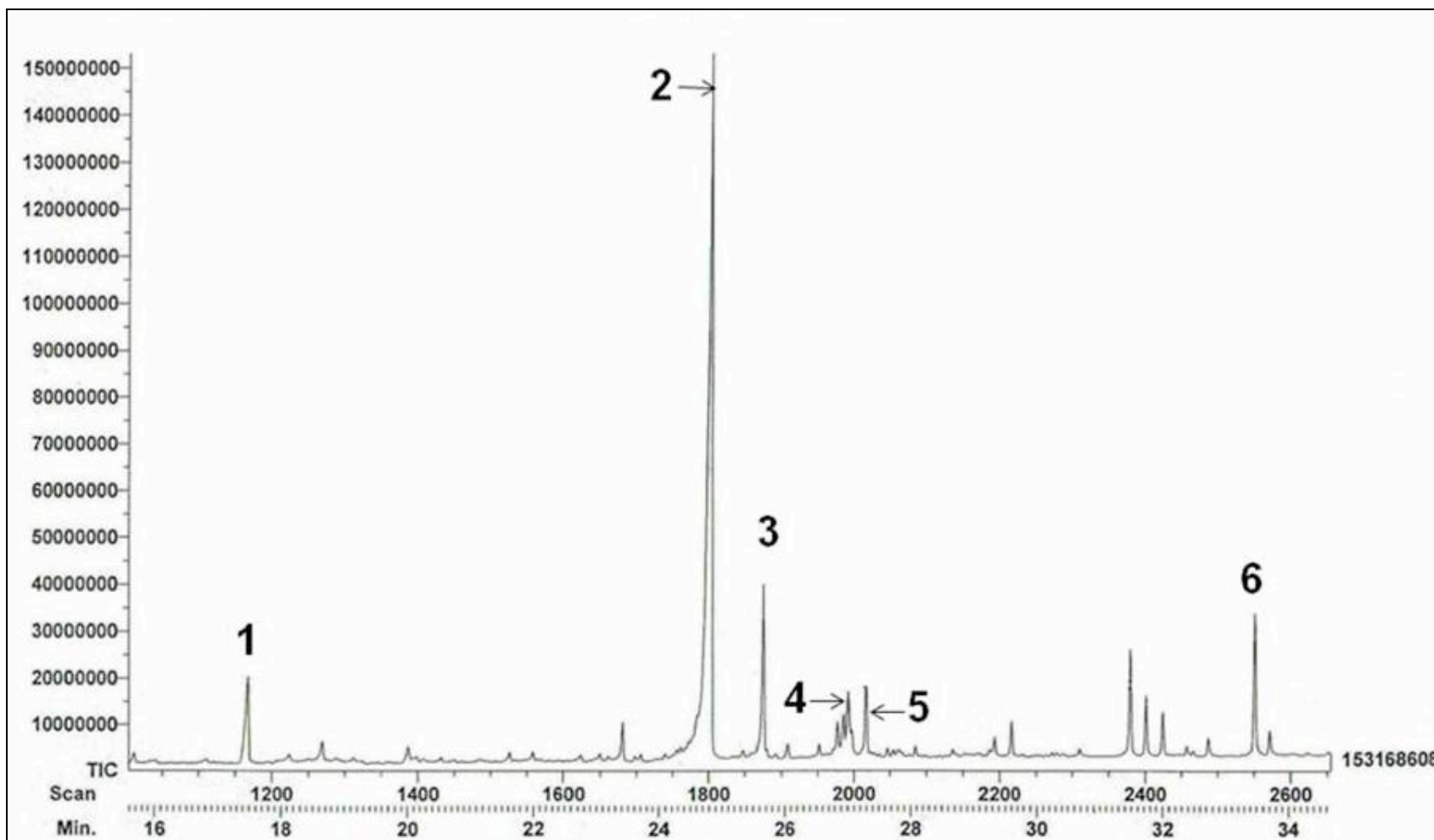
N. Sosa

5. Efecto del extracto metanólico sobre la proliferación de HeLa. a: 0, b: 0.047, c: 0.23, d: 0.47, e: 1.18, f: 2.37  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Fotografías de un microscopio óptico a 10x.

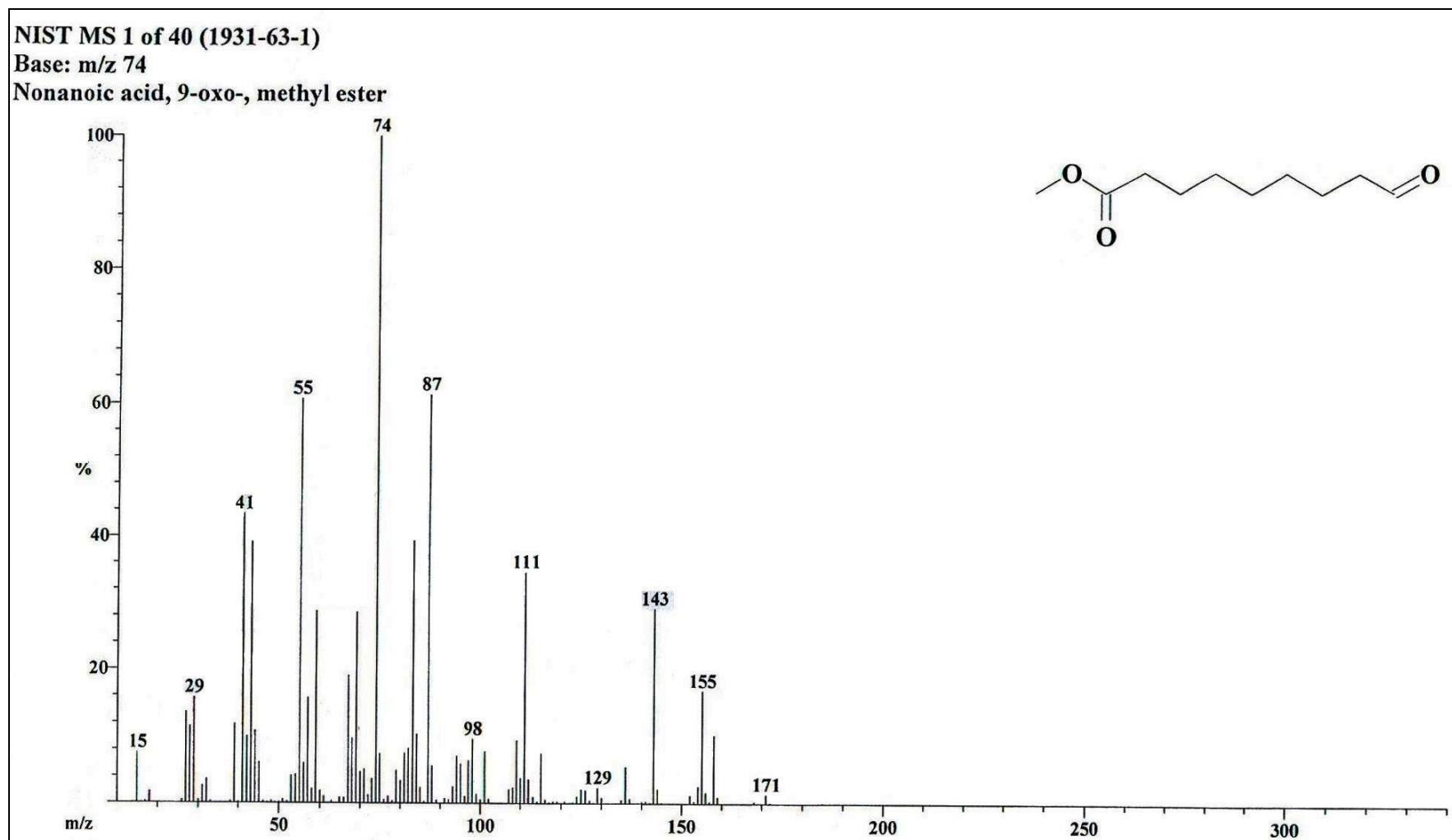
Apéndice 2. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno de la fracción 5-7 del extracto metanólico de frutos de *S. edule* var. *nigrum spinosum*.



Apéndice 3. Cromatograma de Gases de la fracción 5-7 del extracto metanólico de frutos de *S. edule* var. *nigrum spinosum*: (1) Ester metílico del ácido 9-oxo-nonanoico (2) ester metílico del ácido hexadecanoico (3) ester etílico del ácido hexadecanoico (4) ester metílico del ácido 10-octadecenoico (5) ester metílico del ácido octadecanoico (6) ester octílico del ácido octadecanoico.



Apéndice 4. Espectrometría de masas de la fracción 5-7 del extracto metanólico de frutos de *Sechiun edule* var. *nigrum spinosum*.

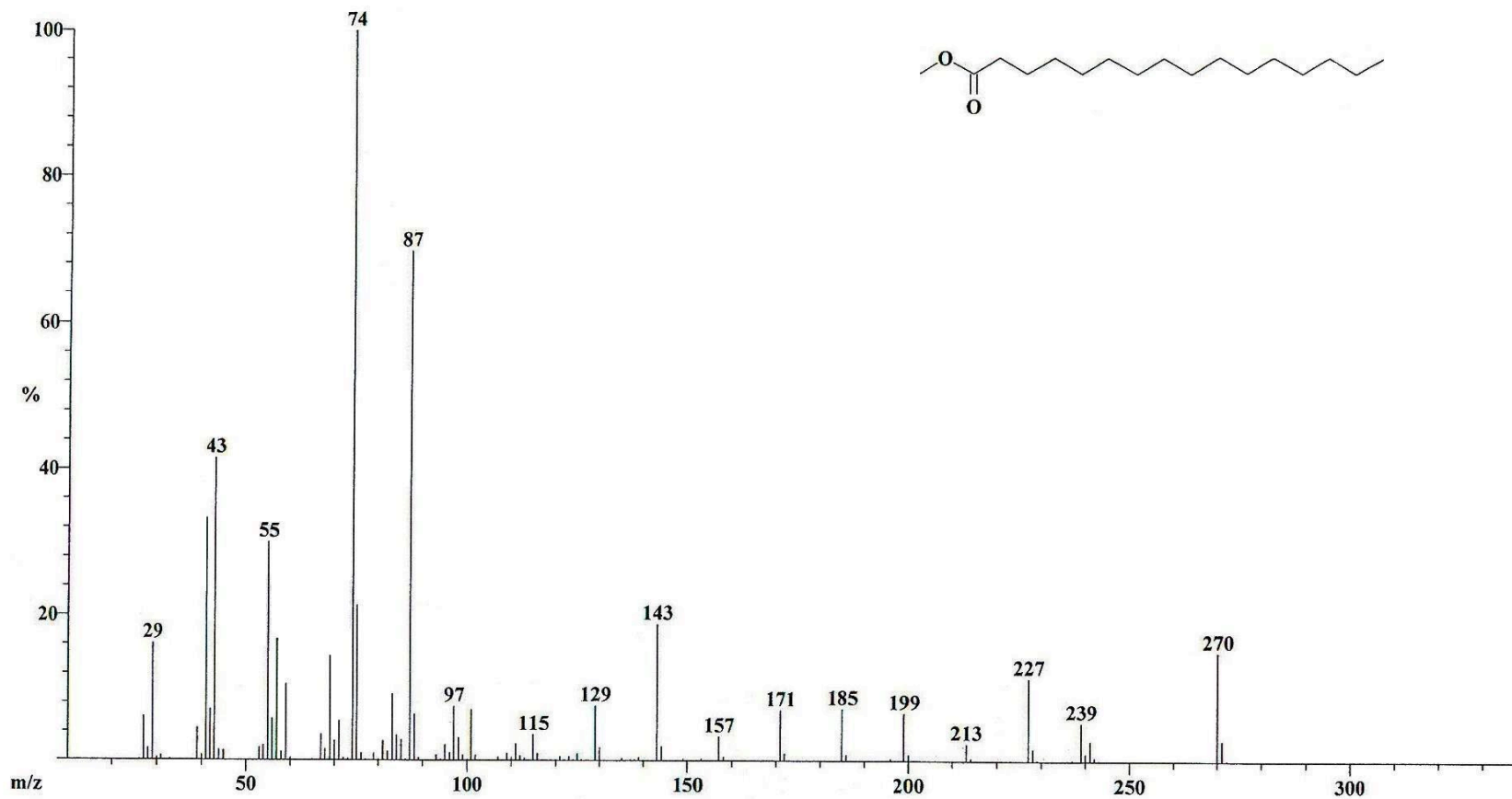


1. Ester metílico del ácido 9-oxo-nonanoico.

NIST MS 1 of 40 (112-39-0)

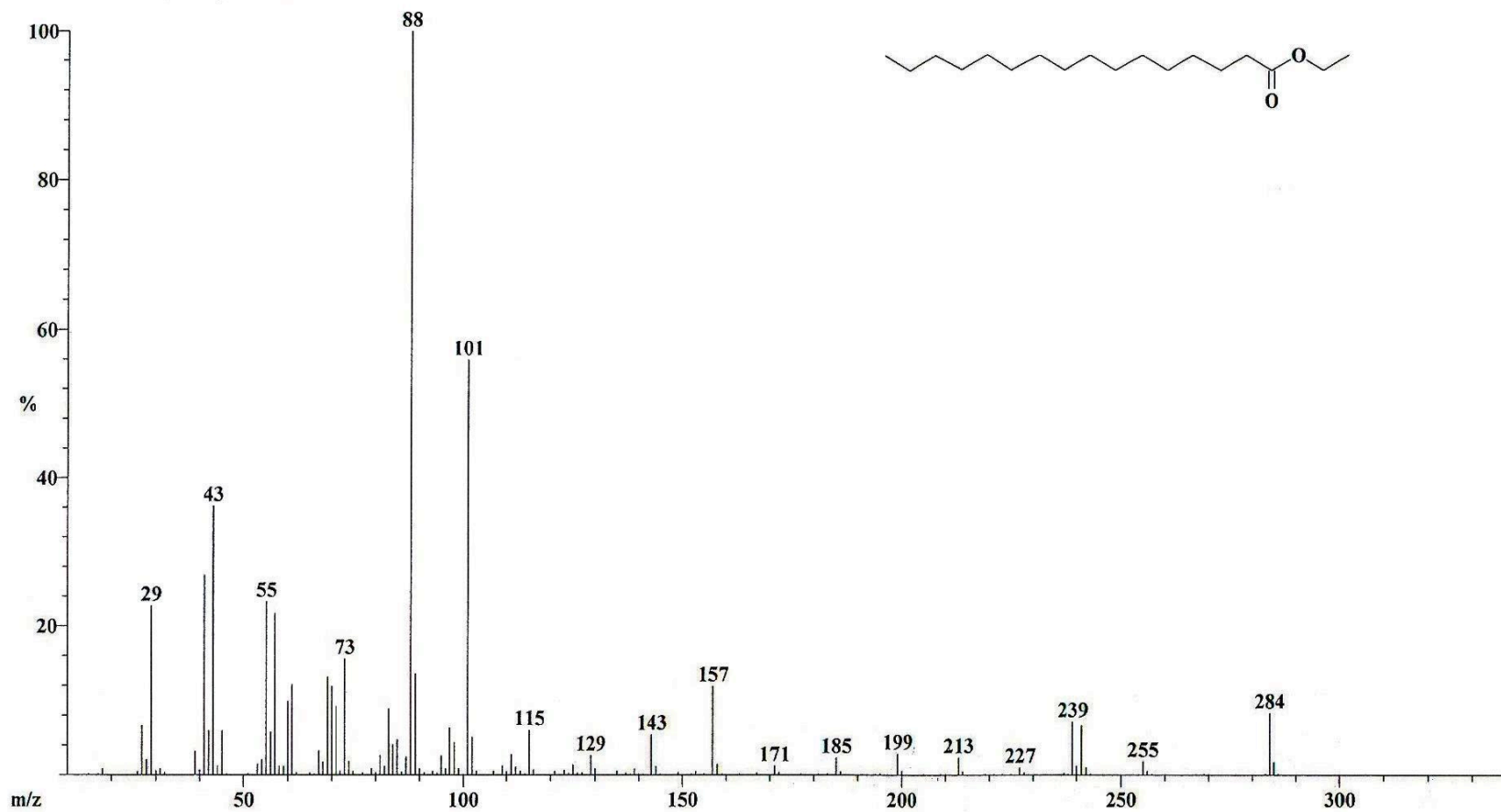
Base: m/z 74

Hexadecanoic acid, methyl ester



2. Ester metílico del ácido hexadecanoico

NIST MS 1 of 40 (628-97-7)  
Base: m/z 88  
Hexadecanoic acid, ethyl ester



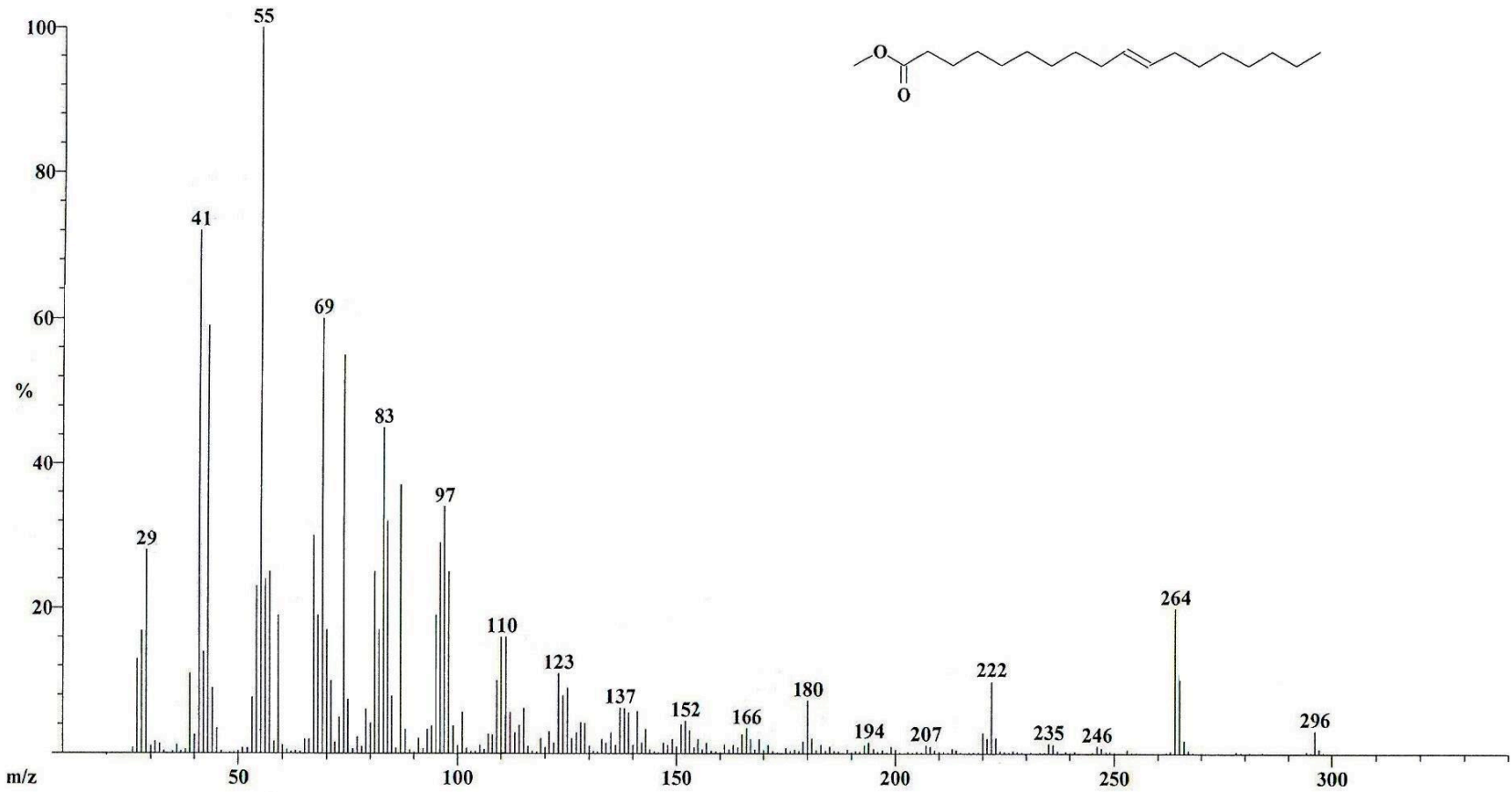
3. Ester etílico del ácido hexadecanoico



NIST MS 1 of 40 (13481-95-3)

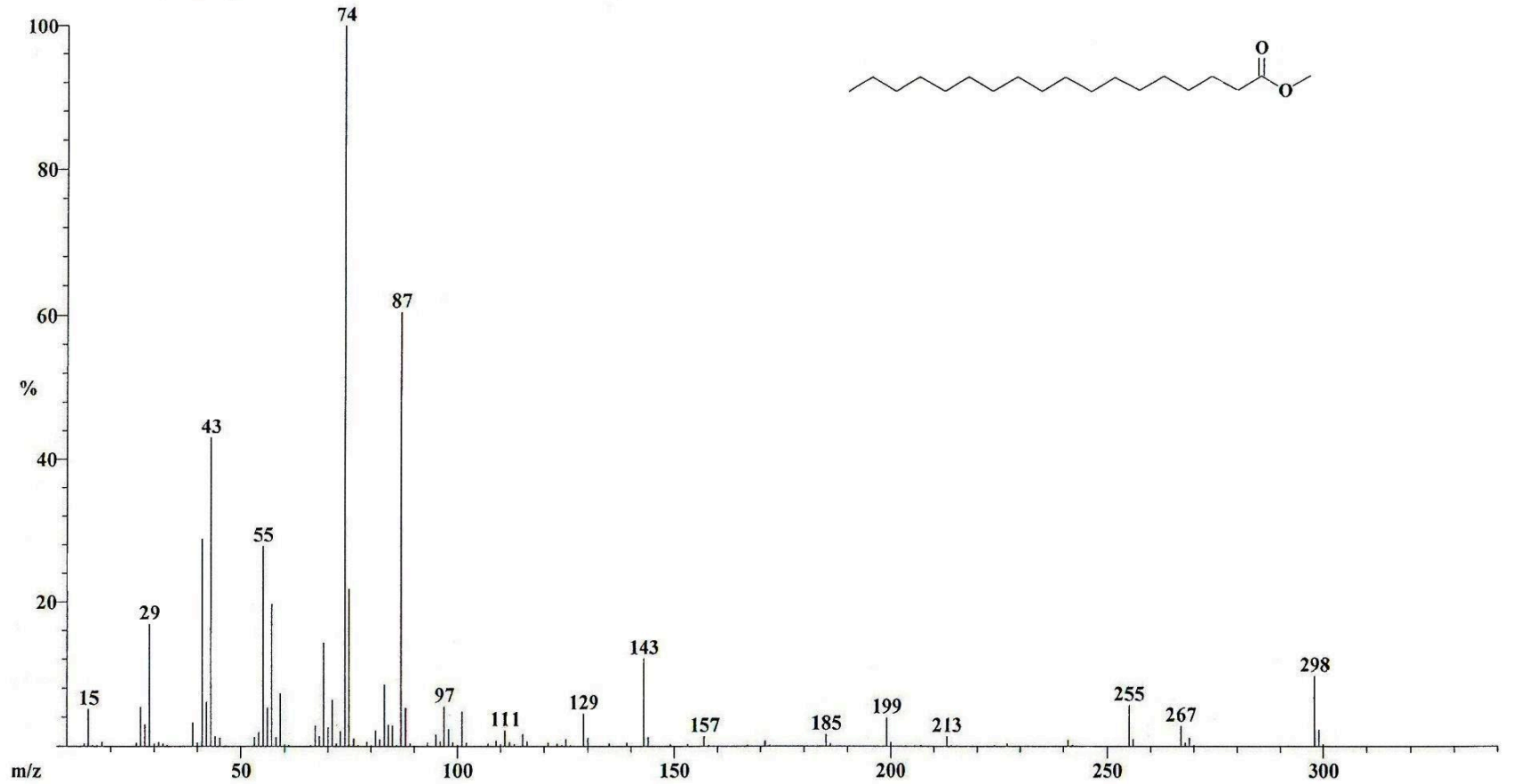
Base: m/z 55

10-Octadecenoic acid, methyl ester



4. Ester metílico del ácido 10-octadecenoico

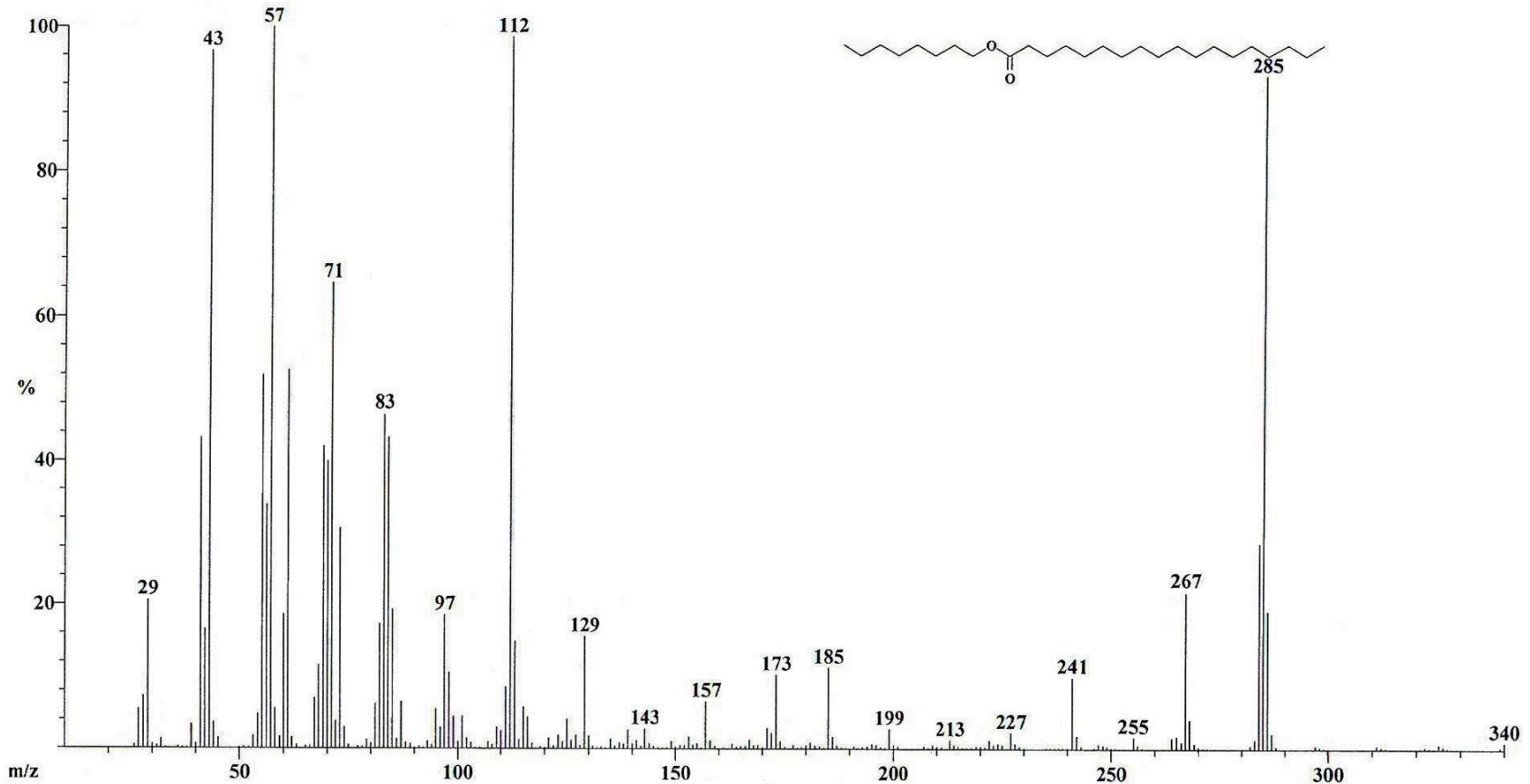
NIST MS 1 of 40 (112-61-8)  
Base: m/z 74  
Octadecanoic acid, methyl ester



5. Ester metílico del ácido octadecanoico

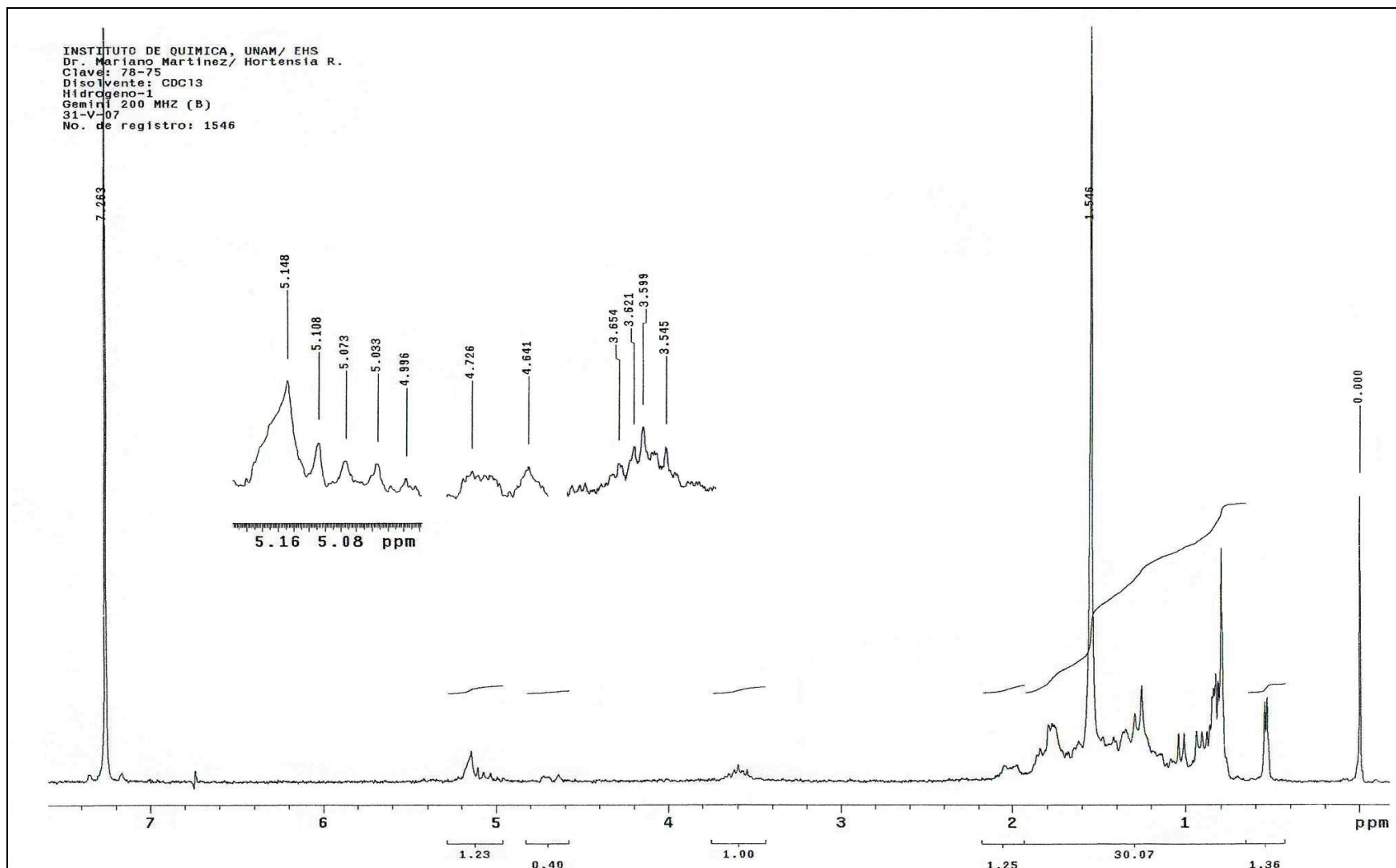


NIST MS 1 of 40 (109-36-4)  
Base: m/z 57  
Octadecanoic acid, octyl ester



6. Ester octílico del ácido octadecanoico

Apéndice 5. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno de la fracción 78-85 de una fracción etérea del extracto metanólico de frutos de *S. edule* var. *nigrum spinosum*



## GLOSARIO.

**Angiogénesis:** es la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de los ya existentes, es la base de varios procesos fisiológicos como el desarrollo embrionario, la formación de la placenta y la cicatrización de heridas.

**Antitumoral o antineoplásico:** se refiere a la actividad *in vivo*, de una agente, en un sistema experimental.

**Calmodulina:** es una proteína ligante de calcio que media los efectos de los iones calcio en numerosos sistemas biológicos. Se encuentra en todas las células eucariotas y lleva a cabo su acción a través de una serie de proteínas quinasas dependientes de ella.

**CC<sub>50</sub>:** concentración citotóxica media.

**Citotoxicidad:** se refiere a la toxicidad *in vitro*, de algún agente sobre líneas celulares tumorigénicas.

**Ecotipo:** variación discontinua en las plantas. Los cambios de una población a otra son bruscos. El ecotipo está determinado por efecto de las condiciones ambientales, reflejadas en una variación infraespecífica y cuyas características pueden no estar fijadas genéticamente en su totalidad.

Fibra ácida detergente (FAD): material insoluble en una solución detergente ácida y está constituida fundamentalmente por celulosa y lignina suelen existir componentes minoritarios como nitrógeno y/o minerales.

Fibra neutra detergente (FDN): Material insoluble en una solución detergente neutra y se compone de celulosa, hemicelulosa y lignina, existiendo otros compuestos mínimos como residuos de almidón cenizas y nitrógeno.

IC<sub>50</sub>: concentración inhibitoria media.

Pardo: (del latín *pardus*, leopardo, por el color) adj. del color de la tierra, intermedio entre blanco y negro, con tinte rojo amarillento y más oscuro que el gris.

Tintura madre: preparado homeopático obtenido al mezclar alguna planta con alcohol o vino, se puede hacer dejándola macerar o simplemente vertiendo alcohol en un recipiente largo y estrecho, puede ser alcohol puro o de graduación inferior.