

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Departamento de Sistemas Biológicos

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

INFORME DE ACTIVIDADES DE SERVICIO SOCIAL

**“Evaluación de la actividad citotóxica y antiinflamatoria de
Haplopappus venetus”**

Alumna: Arellano Bahena Cynthia Irene

Matrícula: 2193067660

Asesora: Dra. Julia Pérez Ramos

Lugar de realización: Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

Fecha de inicio: 01 de marzo de 2023

Fecha de terminación: 30 de septiembre 2023

Ciudad de México, 14 de marzo de 2024

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	4
OBJETIVO GENERAL	5
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
ANTECEDENTES	6
Inflamación.....	6
Tipos de inflamación	6
Inflamación aguda.....	6
Inflamación crónica	7
Mediadores inflamatorios	7
Óxido nítrico	7
Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)	8
Mecanismo de acción	8
Antiinflamatorios esteroideos	9
Mecanismo de acción	10
Cáncer	10
Cáncer en México	11
Tipos de cáncer.....	11
Tratamiento del cáncer.....	12
Quimioterapia.....	12
Medicina tradicional.....	12
<i>Haplopappus venetus</i>	13
Usos medicinales.....	14
Componentes químicos	14
METODOLOGÍA	16
Evaluación de la Actividad Citotóxica	16
Evaluación de la Actividad Antiinflamatoria	17
RESULTADOS	18
Actividad citotóxica.....	18
Actividad antiinflamatoria.....	18
DISCUSIÓN	20
CONCLUSIÓN	22
BIBLIOGRAFÍA	23

INTRODUCCIÓN

Desde la aparición del hombre hace unos 120.000-100.000 años, este ha utilizado las diversas especies vegetales para sus necesidades básicas como son alimento, vestido, curar y/o aliviar enfermedades y lesiones físicas (Maldonado *et al.*, 2020). Conforme a lo reportado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) aproximadamente el 80% de la población del planeta utiliza plantas medicinales para satisfacer o complementar sus necesidades de salud (Tello-Ortega *et al.*, 2020). En México, de acuerdo con la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) crecen alrededor de 30, 000 especies de plantas de las cuales se han registrado más de 4, 000 especies que poseen propiedades medicinales, lo cual representa el 15% de la flora total del país (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2021). La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a las plantas medicinales como materiales o productos derivados de plantas con beneficios terapéuticos u otros beneficios humanos, que contienen materias primas o ingredientes procesados de una o más plantas (Hernández-Pérez *et al.*, 2020).

Hoy en día, en México el aprovechamiento de las plantas medicinales constituye una práctica ancestral que ha sido transmitida de generación en generación por las diversas culturas establecidas en el territorio mexicano, este conocimiento se ha ido adaptando a los contextos espacio temporales y sus poseedores son principalmente los pueblos originarios, de manera que algunas costumbres subsisten y son ejercidas de forma cotidiana (Chávez-Mejía *et al.*, 2017).

Haplopappus venetus, es una planta semiarbusciva que pertenece a la familia Asteraceae y es utilizada para tratar hemorragias (Velázquez-Vázquez *et al.*, 2019). En la etnobotánica también se utiliza para el tratamiento de diversos padecimientos. Por otra parte, Andrade-Cetto & Heinrich (2005), reportan que tiene efecto hipoglucemiante y que es usada en el tratamiento de la diabetes en México, sin embargo, no hay datos científicos disponibles para justificar esta afirmación (Hernández-Pérez, 2020).

El cáncer es la principal causa de mortalidad en todo el mundo, en el 2020 se atribuyeron a esta enfermedad casi 10 millones de muertes. Los tipos de cáncer más comunes son los de mama, pulmón, colon y recto y próstata (Organización Mundial de la Salud, 2022). Por lo anterior, el cáncer constituye un problema de salud a nivel mundial, ocupando un papel importante en los programas de salud pública, asistencia médica, prevención e investigación.

Por esta razón es importante la búsqueda de nuevos compuestos biológicamente activos que permitan el desarrollo de nuevos fármacos para el tratamiento de dicho padecimiento, por lo cual el presente proyecto se centra en la evaluación de la actividad citotóxica hacia diferentes líneas celulares derivadas de tumores humanos, así como de su actividad antiinflamatoria del extracto obtenido a partir de la planta *Haplopappus venetus*.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

En 2021, en México se registraron 1, 122 249 defunciones debido al cáncer (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2023). La tasa de defunciones por esta causa aumentó de forma constante y así mismo el número de pacientes que lo padecen. Es por ello que, tomando en cuenta la gran diversidad vegetal y el conocimiento empírico dentro de la medicina tradicional, la investigación en productos naturales se ha enfocado, entre otros objetivos, en la búsqueda de nuevos compuestos químicos, de origen natural, para el tratamiento del cáncer e inflamación. No obstante, la planta *Haplopappus venetus* de la familia Asteraceae ha sido poco estudiada tanto desde el punto de vista químico como de sus propiedades de actividad biológica, sin embargo, ha demostrado poseer actividad hipoglucemiante y antiinflamatoria (Hernández-Pérez, 2020), por lo que, en este proyecto se propuso evaluar la actividad citotóxica y antiinflamatoria del extracto obtenido de la planta *Haplopappus venetus*.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad citotóxica y antiinflamatoria del extracto obtenido a partir de la planta *Haplopappus venetus*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto orgánico de *H. venetus*.
- Determinar la actividad citotóxica del extracto orgánico de *H. venetus* en líneas de cáncer humano HeLa, MCF-7 y HCT-15.

ANTECEDENTES

Inflamación

La inflamación es una respuesta de los organismos a diferentes agresiones endógenas o exógenas. Tanto la respuesta inmune innata como la adquirida intervienen en este proceso que tiene numerosos efectos locales y sistémicos. Según el tiempo de evolución puede ser aguda o crónica, aunque a veces los patrones convencionales no pueden detectar la participación de un suceso previo (Costa & González, 2019).

Se caracteriza por cinco signos clínicos: rubor, calor, dolor, tumor y efectos funcionales. Estas manifestaciones cardinales son causadas por la acumulación de leucocitos, proteínas plasmáticas y derivados de la sangre hacia sitios de los tejidos extravasculares donde existe una infección o lesión, provocada o no por agentes patógenos (Balusu *et al.*, 2016).

Tipos de inflamación

De acuerdo con la intensidad y duración de la lesión que origine la inflamación, se divide en:

Inflamación aguda

Comienza en minutos u horas y participan mecanismos de respuesta inmune innata que activan la adquirida. Puede ser resolutive eliminando el microorganismo, o avanzar a una sepsis o Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica causado por la infección. La presencia de pus en la dermis, esputo amarillento y líquido cefalorraquídeo turbio, son signos característicos de una respuesta inflamatoria aguda por algún agente (Costa & González, 2019).

Inflamación crónica

Tiene una duración mayor, ya que puede persistir durante semanas, meses o años y es caracterizada por la coexistencia de inflamación y mecanismos de reparación (España et al., 2017). De tal manera que los mecanismos de respuesta innata pueden participar, pero es la adquirida la que mantiene el proceso durante un tiempo prolongado, ya que existe una infiltración de células inflamatorias, como macrófagos y leucocitos, en el sitio del tejido comprometido, lo que produce citocinas proinflamatorias, factores de crecimiento y enzimas y, por lo tanto, contribuye a la progresión del daño tisular y la reparación secundaria, incluida la fibrosis y formación de granulomas.

Mediadores inflamatorios

Los mediadores inflamatorios son sustancias químicas endógenas que nacen de la activación de células inflamatorias y que actúan desencadenando o incrementando el proceso de inflamación. Sin embargo, las interacciones que llevan a cabo dichas sustancias solo se comprenden de manera parcial. Los mediadores inflamatorios liberados incluyen aminas vasoactivas como histamina y serotonina, péptidos (p. ej., bradicinina), eicosanoides (p. ej., tromboxanos, prostaciclina, leucotrienos y prostaglandinas), citocinas (interleucinas (IL1, IL6 e IL8), interferones (TNF- α)), quimiocinas, enzimas (triptasas y otras proteasas), y óxido nítrico (NO) (Kumar, *et al.*, 2008).

Óxido nítrico

El óxido nítrico (NO) es un radical libre producido en macrófagos activados y que en concentraciones elevadas participa en diversos eventos intracelulares y extracelulares en una amplia variedad de tejidos. Por ejemplo, tiene funciones homeostáticas, la vasodilatación; neurotransmisión; inhibición de la adhesión y agregación plaquetaria; defensa del huésped contra agentes infecciosos como bacterias, hongos y parásitos, y destrucción de células tumorales (Kendall et al., 2011). Además, el NO puede ejercer efectos perjudiciales al causar daño celular mediante la generación de radicales libres reactivos como el peroxinitrito y actúa como mediador de enfermedades inflamatorias. Por tanto, la regulación de la

producción de NO es un objetivo importante para las enfermedades inflamatorias (Guzik et al., 2003).

Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son un grupo heterogéneo de fármacos que se encuentran entre los más utilizados por su acción antiinflamatoria, analgésica y antipirética. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), los AINEs se describen como el primer escalón para el manejo del dolor, esto de acuerdo con la escala analgésica para el dolor oncológico, que posteriormente se extendió al dolor crónico no maligno o también denominado no oncológico, el cual usualmente no está asociado con ninguna enfermedad y puede durar meses o años (Olry de Labry et al., 2021).

Los AINEs normalmente se dividen en grupos según su estructura química y selectividad: salicilatos acetilados (aspirina), salicilatos no acetilados (diflunisal, salsalato), ácidos propiónicos (naproxeno, ibuprofeno, ácidos acéticos (diclofenaco, indometacina), ácidos enólicos (meloxicam, piroxicam), ácidos antranílicos (meclofenamato, ácido mefenámico), naftilalanina (nabumetona) e inhibidores selectivos de la COX-2 (celecoxib, etoricoxib). Cabe destacar que el fármaco más utilizado es el ibuprofeno (Ghlichloo, I., 2023).

Mecanismo de acción

Los AINEs actúan inhibiendo las enzimas ciclooxigenasas COX-1 y COX-2, que participan en la síntesis de prostaglandinas. Las isoenzimas ciclooxigenasa COX-1 y COX-2 metabolizan el ácido araquidónico a prostaglandinas intermediarias (PGG₂, y posteriormente a PGH₂), que luego se convierten en otras prostaglandinas que son mediadoras del dolor, la inflamación y la fiebre, y son gastroprotectoras. El tromboxano A₂ provoca agregación plaquetaria y la prostaciclina produce vasodilatación. Al bloquear las enzimas COX, los AINEs inhiben la síntesis y, por tanto, los efectos de las prostaglandinas, la prostaciclina y el tromboxano A₂. Los efectos terapéuticos de los AINEs dependen en gran medida de su selectividad por estas enzimas (Day & Graham, 2013).

La COX-1 se expresa constitutivamente en el cuerpo y desempeña un papel en el mantenimiento del revestimiento de la mucosa gastrointestinal, la función renal y la agregación plaquetaria. La COX-2 no se expresa constitutivamente en el cuerpo; y se expresa de manera inducible durante una respuesta inflamatoria. La mayoría de los AINEs no son selectivos e inhiben tanto la COX-1 como la COX-2. Sin embargo, los AINEs selectivos para la COX-2 (por ejemplo, celecoxib) solo se dirigen a la COX-2 y, por lo tanto, tienen un perfil de efectos secundarios diferente. Es importante destacar que, debido a que la COX-1 es el principal mediador para garantizar la integridad de la mucosa gástrica y la COX-2 participa principalmente en la inflamación, los AINE selectivos de la COX-2 deberían proporcionar un alivio antiinflamatorio sin comprometer la mucosa gástrica (Chaiamnuay et al., 2006).

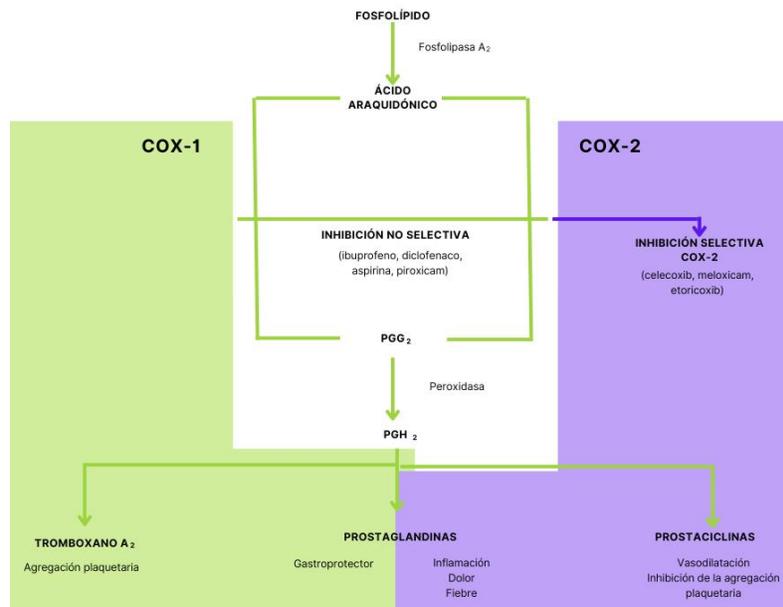


Figura 1. Mecanismo de acción de los AINEs.

Antinflamatorios esteroideos

Se les conoce también como corticosteroides, son fármacos análogos de las hormonas esteroideas naturales producidas por la corteza suprarrenal e incluyen glucocorticoides y mineralocorticoides; los primeros participan predominantemente en el metabolismo y tienen efectos inmunosupresores, antiinflamatorios y vasoconstrictores; y los segundos regulan los electrolitos y el equilibrio hídrico al

afectar el transporte de iones en las células epiteliales de los túbulos renales (Liu et al., 2013). En el área farmacológica este grupo de medicamentos se usan comúnmente para el tratamiento de enfermedades crónicas tales como el asma o la artritis reumatoide.

Mecanismo de acción

Los corticosteroides tienen efectos antiinflamatorios e inmunosupresores al alterar numerosos procesos en la regulación positiva del sistema inmunológico. La mayor parte de su actividad supresora se limita a la inmunidad mediada por células. Se cree que los corticosteroides suprimen la síntesis de citocinas proinflamatorias (interleucina IL1, IL2, IL3, factor de necrosis tumoral alfa e interferón gamma), la presentación de antígenos y la proliferación de linfocitos mediante su unión a los receptores de glucocorticoides que se encuentran en todo el cuerpo. Cuando se administran corticosteroides se produce leucopenia, lo cual evita la acumulación de macrófagos y neutrófilos en focos inflamatorios, hay una disminución de la expresión de las moléculas de adhesión endoteliales, no hay desgranulación e inhiben la respuesta de los mastocitos a la IgE, disminuye la supervivencia de eosinófilos y se reduce de forma significativa las células dendríticas (presentadoras de antígenos) (Ali et al., 2023).

Cáncer

El cáncer se define como al grupo de enfermedades caracterizadas por un crecimiento descontrolado de células que no responden a los controles de crecimiento y diferenciación, las cuales se dispersan a través de todo el organismo (American Cancer Society). Así, se puede entender al cáncer como un proceso de crecimiento tisular producido por la proliferación continua de células con capacidad de invasión y destrucción de otros tejidos. El origen, tipo celular y tejido determinan el tipo de cáncer. El tipo más frecuente, son los carcinomas, que son derivados de células epiteliales.

Cáncer en México

El cáncer es un problema de salud pública y es la tercera causa de muerte en México, después de las enfermedades cardiovasculares y diabetes (Organización Mundial de la Salud, 2020). Las estimaciones de mortalidad por tumores malignos en México se mantienen en el 13%. Sin embargo, las proyecciones de las muertes por neoplasias a nivel mundial indican que de 2007 a 2030 la mortalidad podría aumentar cerca de 45%. A pesar de que las tasas de mortalidad en México son las más bajas en el continente americano, los decesos por tumores malignos aumentan día con día; lo que con lleva a una carga en el sistema de salud (Reynoso, 2017).

Tipos de cáncer

Actualmente, existen diversas maneras de clasificar el cáncer; sin embargo, una clasificación general se relaciona con el tipo de tejido en donde el tumor emerge. Los tres subtipos principales son los sarcomas, los carcinomas y las leucemias (Alavi & Hamidi, 2019).

Sarcomas	Carcinomas	Leucemias
Proceden del tejido conectivo como huesos, cartílagos, nervios, vasos sanguíneos, músculos y tejido adiposo.	Proceden de tejidos epiteliales como la piel o los epitelios que tapizan las cavidades y órganos corporales; y de los tejidos glandulares de la mama y próstata.	Son cánceres de los tejidos formados de las células sanguíneas. Producen inflamación de los ganglios linfáticos, invasión del vaso y médula ósea, y existe una sobreproducción de células blancas inmaduras.

Tabla 1. Clasificación del cáncer de acuerdo al tipo de tejido de donde emerge el tumor.

Tratamiento del cáncer

Dependiendo de su etiología el cáncer se desarrolla de manera muy particular en cada paciente, por lo que hoy en día se tratan de establecer terapias individuales en las cuales se combinan tratamientos; como parte de estos tratamientos tenemos a los procedimientos quirúrgicos, los cuales consisten en extirpar una parte del órgano o tejido, según lo avanzado y el lugar donde se encuentra localizado el cáncer; regímenes de quimioterapia la cual consiste en suministrar un medicamento que produce la muerte de las células y por último, la radioterapia, la cual consiste en aplicar isótopos radioactivos para producir la muerte de las células cancerosas, reduciendo el tamaño del tumor facilitando su extirpación (Mustapha et al., 2021).

Quimioterapia

La quimioterapia es el uso de medicamentos para inhibir o matar las células cancerosas en proliferación tratando de dejar a las células huésped ilesas o al menos recuperables (Mustapha et al., 2021; Soares & Johnson, 2007). Los medicamentos de quimioterapia generalmente se administran por vía intravenosa o por vía oral para que puedan llegar a las células cancerosas en la mayor parte del cuerpo. A veces se administran mediante inyección debajo de la piel, en el músculo, en el líquido que rodea la columna vertebral o en una cavidad corporal como la vejiga, o mediante el uso de cremas para algunos cánceres de piel (Mustapha et al., 2021; Vitiello et al., 2007). Los medicamentos de quimioterapia no pueden distinguir entre células reproductoras de tejidos normales (como aquellas que reemplazan a las células normales desgastadas) y células cancerosas. Esto significa que las células normales se pueden dañar junto con las células cancerosas y esto provoca efectos secundarios. Por esta razón, el alcance y la eficacia de la quimioterapia quedan restringidos.

Medicina tradicional

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la medicina tradicional como la suma de los conocimientos, habilidades y prácticas basadas en las teorías, creencias y experiencias indígenas de diferentes culturas, explicables o

no, que incorporan medicinas basadas en plantas, animales y minerales, así como terapias espirituales, técnicas manuales y ejercicios aplicados de forma individual o en combinación para mantener el bienestar, además de tratar, diagnosticar y prevenir las enfermedades (Valtueña, 2003;OMS, 2002). La práctica de la medicina tradicional, representa una fuente accesible para procurar la salud y quizás la única para los sectores más pobres en varios países en vías de desarrollo, como lo es México, donde la práctica herbolaria no solo forma parte de la atención para la salud sino también es un rasgo cultural.

Según datos de la OMS, alrededor del 80% de la población mundial utiliza la medicina tradicional y hasta la fecha, 170 de los 194 estados miembros de la organización han informado sobre el uso de la medicina tradicional. De tal forma que, el uso masivo de las plantas medicinales a nivel internacional, ha sentado las bases para la producción de nuevos medicamentos. Actualmente, el 40% de los medicamentos usados en el presente se basan en productos naturales, y determinados fármacos de referencia, como el ácido acetilsalicílico, la artemisinina y algunos tratamientos contra el cáncer infantil, proceden de la medicina tradicional (OMS, 2023).

Haplopappus venetus

Es una planta semiarbustiva como se muestra en la Figura 1, perteneciente a la familia Asteraceae. También es conocida como *Isocoma veneta*. Esta planta puede medir hasta de 80 cm de alto. Su tallo es leñoso, con diminutos pelillos y sus hojas son alternas, muy angostas, aunque algo más anchas hacia el ápice, de hasta 3 cm de largo y hasta 1 cm de ancho, ligera o profundamente divididas en lóbulos puntiagudos, punteadas y resinosas, sésiles a casi sésiles. Está compuesta de numerosas cabezuelas, formando grupos en la punta de los tallos. La cabezuela, aunque tiene el aspecto de una flor, es en realidad una inflorescencia formada por pequeñas flores sésiles dispuestas sobre un receptáculo plano (cubierto de numerosas salientes), que no presenta brácteas (páleas) sobre él, es decir está desnudo. El fruto es seco y no se abre (un aquenio), con una sola semilla, es oblongo, algo comprimido, de más o menos 1.5 mm de largo, con abundantes y

suaves pelillos, en el ápice del fruto se presenta una estructura llamada vilano que consiste de \pm 30 cerdas desiguales y blanquecinas (Vibrans, 2009).

Se encuentra en México específicamente en los estados de Aguascalientes, Guanajuato, Jalisco, San Luís Potosí y Zacatecas (McVaugh, 1984), pero es más ampliamente distribuido en el norte y centro de México (Coahuila, Nuevo León, San Luis Potosí, Tamaulipas, Zacatecas, Ciudad de México, Hidalgo, Morelos, Puebla, Tlaxcala, Veracruz). Su hábitat es principalmente en la vegetación secundaria, como maleza ruderal o arvense (Rzedowski y Rzedowski, 2001). También en dunas y vegetación costera y pastizales en el norte (Vibrans, 2009).



Figura 1. *Haplopappus venetus*

Usos medicinales

Es utilizada en la etnobotánica para el tratamiento de diversos padecimientos, de acuerdo con Velázquez-Vázquez et al., es una planta que sirve para tratar infecciones, dolor estomacal, cólicos, y detener hemorragias. Asimismo, se ha reportado que tiene efectos hipoglicemiantes por lo que se usa en el tratamiento para la diabetes en México (Hernández Pérez et al., 2020).

Componentes químicos

En la actualidad existe poca información con respecto a su composición química. Sin embargo, se ha determinado que la planta contiene diterpenos (ácido grindélico) (Figura 2), sesquiterpenos (óxido de β -cariofileno) (Figura 2) y posibles triterpenos y compuestos fenólicos.

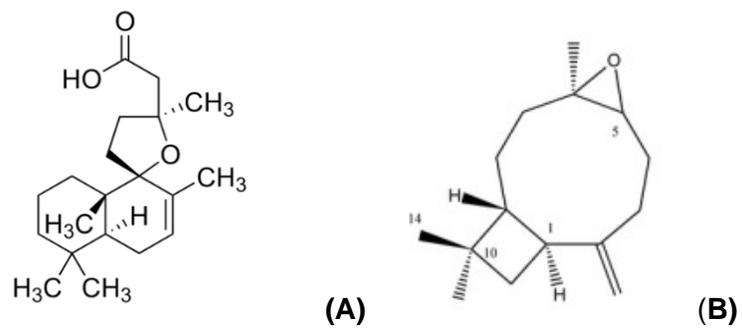


Figura 2. Estructura química del ácido grindélico (A) y óxido de β -cariofileno (B).

METODOLOGÍA

Evaluación de la Actividad Citotóxica

Para determinar la actividad citotóxica del extracto de la planta *Haplopappus venetus* se evaluó en tres líneas celulares cancerosas: cáncer de colón (HCT-15), cáncer de mama (MCF-7) y cáncer de cérvix (HeLa). Las líneas celulares se cultivaron en medio DMEM adicionado con 5% de suero fetal bovino (SFB) y 200 µL de antibiótico. Los cultivos celulares se mantuvieron en una incubadora a una atmósfera de 5% de CO₂, a una temperatura de 37°C.

Una vez estabilizados los cultivos, las células adheridas a la superficie del frasco de cultivo se despegaron, con 1 mL de tripsina. Posteriormente, la tripsina se inactivó adicionando 1 mL de medio preparado. La densidad y viabilidad de las líneas células se contabilizó en una cámara de Neubauer. Una vez hecho lo anterior todas las líneas celulares fueron incubadas por un periodo de 24 h a 37°C, y se estabilizaron antes de la aplicación de los extractos.

Los extractos fueron evaluados a concentraciones de 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 y 3.125 µg/mL y como control se usaron células sin tratamiento. Inmediatamente después de la preparación de las soluciones se agregaron 100 µl de cada dilución a los pozos correspondientes. Posteriormente, los cultivos con tratamiento y el control se incubaron por un periodo de 48 h a 37°C en una atmósfera de 5% de CO₂. El crecimiento y viabilidad celular se evaluó añadiendo MTT (bromuro del 3-(4, 5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio).

Finalmente, la densidad óptica se leyó espectrofotométricamente midiendo la absorbancia a 540 nm usando un lector de ELISA. La densidad óptica es proporcional al crecimiento celular e inversamente proporcional al grado de citotoxicidad de un extracto prueba (Houghton et al., 2007). La citotoxicidad es reportada como el porcentaje de inhibición del crecimiento celular.

Evaluación de la Actividad Antiinflamatoria

Producción de óxido nítrico en macrófagos estimulados con LPS

Esta prueba se realizó en macrófagos murinos J774.2, estimulados con LPS de *Escherichia coli*. Se determinó la producción de óxido nítrico mediante la cuantificación de nitritos acumulados en el medio de cultivo celular a través de la reacción de Griess, en donde se usa Sulfonamidas y Dihidrocloreuro de N-(1-naftil) etilendiamina (NED) en condiciones ácidas (ácido fosfórico). Para llevar a cabo la reacción, se colocó en una placa de 96 pozos: 50 μL de la muestra experimental (duplicado o triplicado), posteriormente 50 μL de la solución de sulfanilamida, se incubó por 5-10 min y se añadió 50 μL de la solución de NED y se volvió a incubar. A continuación, la densidad óptica de cada muestra se leyó en un lector de placas a 520-550 nm. La concentración de nitritos se determinó por interpolación de los resultados de densidad óptica en una curva de calibración construida con concentraciones conocidas de NaNO_2 desde 0 hasta 100 μM . Las densidades ópticas se relacionaron directamente con la concentración de NO. Los resultados se reportan como porcentaje de inhibición de nitritos que indica la capacidad, de los compuestos, de inhibir la producción de óxido nítrico.

RESULTADOS

Actividad citotóxica

Se evaluó la actividad citotóxica *in vitro* de los extractos de la planta *Haplopappus venetus* en líneas celulares de cáncer utilizando el ensayo MTT y células HaCat como control de células sanas. El efecto citotóxico del extracto sobre diferentes líneas celulares después de un tratamiento por 24 h se puede observar en la Tabla 2. El efecto citotóxico observado en las diferentes líneas celulares fue similar a la línea control HaCaT aún con 200 µg/ ml del extracto.

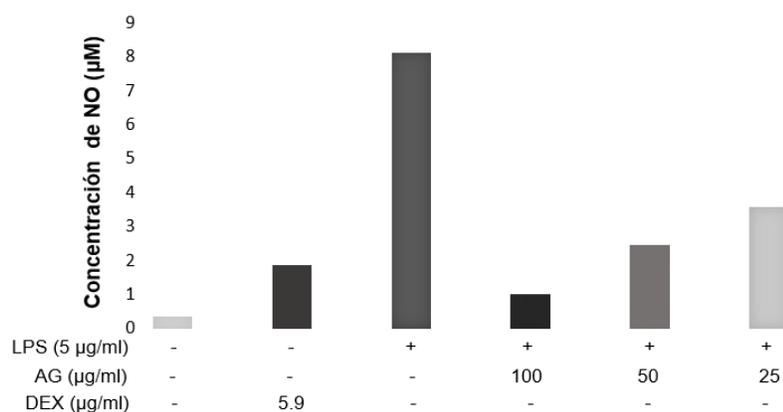
Tabla 2. IC₅₀ del extracto de *Haplopappus venetus* contra las líneas celulares MCF-7, HeLa, HTC-15 y HaCaT.

IC ₅₀ (µg/mL)				
Extracto de <i>H. venetus</i>	Línea celular			
	HCT-15	MCF-7	HeLa	HaCaT
	149.98 ± 2.13	110.71 ± 4.00	102.44 ± 2.36	133.33 ± 3.05

Actividad antiinflamatoria

La producción de nitrito se cuantificó mediante la reacción de Griess. Como se puede ver en la Gráfica 1, los niveles de NO en cultivos celulares control estimulados con LPS fueron significativamente más altos que los de las células control normales no estimuladas. La producción de NO estimulada por LPS se inhibió de una manera proporcional a la concentración cuando los macrófagos se trataron previamente con 25, 50 y 100 µg de extracto por ml.

Gráfica 1. Efecto del extracto de *H. venetus* sobre la producción de NO inducida por LPS. Los valores mostrados son la media de $n = 3$ ensayos/grupo de tratamiento. La disminución de la concentración de NO es significativamente menor comparada con LPS y similar a la producida por DEX. *El valor es significativamente diferente ($P < 0,05$) en comparación con el del control de "LPS solo".



En la tabla 3, se observa que el extracto de *Haplopappus venetus* muestra una actividad inhibitoria significativa de NO en macrófagos tratados con LPS de una manera dependiente de la concentración. El extracto de *Haplopappus venetus* inhibió la producción de NO un 87.51% a la concentración más alta probada (100 µg/ml).

Tabla 3. Efecto del extracto de *H. venetus* en tres concentraciones diferentes (25, 50 y 100 µg/ml) sobre la producción de óxido nítrico (NO).

	Concentración (µg/ml)	Inhibición de la producción de óxido nítrico (%)
<i>H. venetus</i>	100	87.51
	50	69.60
	25	56.09

DISCUSIÓN

El uso de plantas medicinales con enfoque en la prevención y tratamiento del cáncer se ha seguido durante muchos años. Sin embargo, para poder descubrir nuevas moléculas anticancerígenas eficaces, es necesario determinar la actividad citotóxica de los extractos de plantas. De acuerdo con Suffness y Pezzuto, aquellos extractos que presentan valores de $IC_{50} < 30 \mu\text{g/ml}$ en ensayos de líneas celulares tumorales se consideran prometedores para el desarrollo de fármacos contra el cáncer (Ribeiro et al., 2012).

En el presente estudio, el extracto de *Haplopappus venetus* presentó una actividad citotóxica débil, ya que en las tres líneas de cáncer (HeLa, MCF-7, HCT-15) su IC_{50} fue $> 100 \mu\text{g/ml}$. Por lo tanto, este extracto no muestra resultados prometedores para el desarrollo de una nueva terapia anticancerígena. No obstante, algunos de los compuestos identificados en la planta presentan actividad anticancerígena cuando se purifican, por lo que la débil actividad obtenida podría sugerir que los compuestos con actividad anticancerígena en el extracto están presentes en concentraciones muy bajas para poder mostrar una fuerte actividad. Por ejemplo, el óxido de β -cariofileno es un sesquiterpeno anticancerígeno presente en la planta que ha demostrado que al ser aislado ejerce un efecto citotóxico en varias líneas celulares cancerosas, como HeLa (células de adenocarcinoma cervical humano), HepG2 (células cancerosas de leucemia humana), AGS (células de cáncer de pulmón humano), SNU-1 (células de cáncer de estómago humano) y SNU-16 (células de cáncer de estómago humano) (Fidy et al., 2016). Por otro lado, el ácido grindélico, ha mostrado tener potencial anticancerígeno cuando su estructura química es modificada, ya que este posee una cadena lateral C-14 adecuada para insertar grupos funcionales oxigenados y nitrogenados, los cuales podrían potenciar su actividad citotóxica, por lo cual esta planta podría ser una fuente potencial de dichos compuestos.

La actividad antiinflamatoria del extracto de *Haplopappus venetus* se determinó mediante la inhibición de la producción de óxido nítrico (NO). En la inflamación, el óxido nítrico (NO) actúa como mediador proinflamatorio y es sintetizado por el óxido

nítrico sintasa inducible (iNOS) en respuesta a agentes proinflamatorios como el lipopolisacárido (LPS) (Lu et al., 2008). La producción de NO en el grupo control tratado con LPS 5 µg/ml fue de 8.129 µM, esta producción es reducida significativamente al aplicar distintas dosis del compuesto, en este caso 100, 50 y 25 µg/ml, donde la producción de NO se redujo a 1.015, 2.471 y 3.570 µM respectivamente, por lo que se observa una mayor reducción cuando utilizamos una mayor concentración del compuesto. Por otra parte, la dexametasona fue utilizada como control positivo por su actividad antiinflamatoria reportada, el extracto de *H. venetus* mostró una actividad significativamente similar. La supresión de la producción por LPS de iNOS y su producto NO inducida *in vitro* por el extracto de *H. venetus* podría estar relacionada con la presencia de terpenos, ya que estos fitoquímicos poseen efectos antiinflamatorios conocidos en animales, el óxido de β - cariofileno ejerce una acción antiinflamatoria mediante la inhibición de los principales mediadores inflamatorios, como la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), la interleucina 1 beta (IL-1β), la interleucina-6 (IL-6), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) y la ciclooxigenasa 1 (COX-1), ciclooxigenasa 2 (COX-2) (Francomano et al., 2019).

CONCLUSIÓN

El extracto de *Haplopappus venetus* muestra una actividad citotóxica débil en líneas celulares de cáncer, por lo cual no tiene potencial como agente anticancerígeno.

Respecto a la evaluación de la actividad antiinflamatoria, los resultados *in vitro* obtenidos mostraron que el extracto de *H. venetus* redujo significativamente la producción de óxido nítrico en macrófagos murinos J774.2 estimulados con LPS, por lo que podemos sugerir que es un posible potencial antiinflamatorio, y su actividad es dependiente de la concentración. Sin embargo, para poder identificar los principales componentes activos responsables de este efecto se deben purificar a partir del extracto de *H. venetus*.

BIBLIOGRAFÍA

Aguilar, A., Camacho, J.R., Chino, S., Jácquez, P., López, M.E. (1994). Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. Información etnobotánica. IMSS, México.

Alavi, M., & Hamidi, M. (2019). Passive and active targeting in cancer therapy by liposomes and lipid nanoparticles. *Drug Metabolism And Personalized Therapy*, 34(1). <https://doi.org/10.1515/dmpt-2018-0032>

Ali, K. A., Maity, A., Roy, S. D., Pramanik, S. D., Das, P. P., & Shaharyar, M. A. (2023). Insight into the mechanism of steroidal and non-steroidal anti-inflammatory drugs. En *Elsevier eBooks* (pp. 61-94). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-99855-0.00004-x>

American Cancer Society. (s. f.). Glossary: Definitions & Phonetic Pronunciations. <https://www.cancer.org/cancer/glossary.html>

Andrade-Cetto, A., & Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(3), 325-348. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.019>

Balusu, S., Van Wonterghem, E., De Rycke, R., Raemdonck, K., Stremersch, S., Gevaert, K., Brkic, M., Demeestere, D., Vanhooren, V., Hendrix, A., Libert, C., & Vandenbroucke, R. E. (2016). Identification of a novel mechanism of blood-brain communication during peripheral inflammation via choroid plexus-derived extracellular vesicles. *EMBO molecular medicine*, 8(10), 1162–1183. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606271>

Chaiamnuay, S., Allison, J. J., & Curtis, J. R. (2006). Risks versus benefits of cyclooxygenase-2-selective nonsteroidal antiinflammatory drugs. *American Journal Of Health-System Pharmacy*, 63(19), 1837-1851. <https://doi.org/10.2146/ajhp050519>

Chávez-Mejía, M. C., White-Olascoaga, L., Moctezuma-Pérez, S., & Herrera-Tapia, F. (2017). Prácticas curativas y plantas medicinales: un acercamiento a la etnomedicina de San Nicolás, México. *Cuadernos Geográficos*, 56(2), 26-47.

Costa, M. G., & González, A. L. (2019). La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la Medicina en el siglo XXI. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 18(1), 30-44. <http://scielo.sld.cu/pdf/rhcm/v18n1/1729-519X-rhcm-18-01-30.pdf>

Day, R. O., & Graham, G. G. (2013). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *British Journal of Sports Medicine*, 48(18), 1396. <https://doi.org/10.1136/bmj.f3195>

España, F. I. R., Vázquez, J. A. P. C. Y., & Calderón, M. K. A. (2017). Revisión de las bases fisiopatológicas de la inflamación. *Revista CONAMED*, 22(1), 48-51. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6000408.pdf>

Fidy, K., Fiedorowicz, A., Strzdała, L., & Szumny, A. (2016). β -caryophyllene and β -caryophyllene oxide—natural compounds of anticancer and analgesic properties. *Cancer Medicine*, 5(10), 3007-3017. <https://doi.org/10.1002/cam4.816>

Francomano, F., Caruso, A., Barbarossa, A., Fazio, A., La Torre, C., Ceramella, J., Mallamaci, R., Saturnino, C., Iacopetta, D., & Sinicropi, M. S. (2019). β -Caryophyllene: A Sesquiterpene with Countless Biological Properties. *Applied Sciences*, 9(24), 5420. <https://doi.org/10.3390/app9245420>

Ghlichloo, I. (2023). Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs). StatPearls-NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547742/>

Hernández Pérez, A., Velázquez Jiménez, R., Campos Montiel, R. G., López Palestina, C. U., & Delia Hernández-Fuentes, A. (2020). Análisis fitoquímico y actividad antioxidante de extractos de *Haplopappus venetus*. *Congreso Internacional de Investigación Academia Journals*, 12(2), 261–267.

Hernández-Pérez, A., Velázquez-Jiménez, R., Campos-Montiel, R. G., López-Palestina, C. U., & Delia Hernández-Fuentes, A. (2020). Análisis fitoquímico y actividad antioxidante de extractos de *Haplopappus venetus*. (Spanish). *Congreso Internacional de Investigación Academia Journals*, 12(2), 261–267.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2 de febrero de 2023). ESTADÍSTICAS A PROPÓSITO DEL DÍA MUNDIAL CONTRA EL CÁNCER (4 DE FEBRERO) DATOS NACIONALES. Recuperado 8 de febrero de 2023, de https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2023/EAP_Cancer.pdf

Kendall, H.K., Marshall, R.I., Bartold, P.M. (2011). Nitric oxide and tissue destruction. *Oral Diseases*. 7 (1): 2:10.

Kumar, V., Abbas, A., Fausto, N. & Mitchell, R. (2008). *Patología humana*. (8ª Ed.), España: Elsevier.

Liu, D., Ahmet, A., Ward, L. M., Krishnamoorthy, P., Mandelcorn, E. D., Leigh, R., Brown, J. P., Cohen, A., & Kim, H. (2013). A practical guide to the monitoring and management of the complications of systemic corticosteroid therapy. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/1710-1492-9-30>

Maldonado, C., Paniagua-Zambrana, N. Y., Bussmann, R. W., Zenteno-Ruiz, F. S., & Fuentes, A. F. (2020). La importancia de las plantas medicinales, su taxonomía y la búsqueda de la cura a la enfermedad que causa el coronavirus (COVID-19). *Ecología en Bolivia*, 55(1), 1-5. http://www.scielo.org.bo/pdf/reb/v55n1/v55n1_a01.pdf

McVaugh, R., 1984. *Compositae. Flora Novo-Galiciana. A descriptive account of the vascular plants of Western Mexico*, Vol. 12. The University of Michigan Press, Ann Arbor, Michigan.

Mustapha, A., Ismail, A., Abdullahi S.U., Hassan, O.N., Ugwunnaji, P.I. and Berinyu, E.B. (2021). Cancer Chemotherapy; A review update of the mechanisms of action, prospects and associated problems. *BIOMED Natural and Applied Science*. 01(01), 001–016

Olry de Labry Lima, A., Salamanca-Fernández, E., Alegre del Rey, E., Matas Hoces, A., González Vera, M., & Bermúdez Tamayo, C. (2021). Consideraciones de seguridad en la prescripción de medicamentos antiinflamatorios no esteroideos

(AINEs), a través de una revisión de revisiones sistemáticas. *Anales Del Sistema Sanitario De Navarra*, 44(2), 261–273. <https://doi.org/10.23938/ASSN.0965>

Organización Mundial de la Salud (18 de agosto de 2023). Primera Cumbre Mundial de la OMS sobre Medicina Tradicional. Organización Mundial de la Salud. Recuperado el 5 de marzo de 2024 de <https://www.who.int/es/news-room/events/detail/2023/08/17/default-calendar/the-first-who-traditional-medicine-global-summit>

Organización Mundial de la Salud (3 de febrero de 2023). Cáncer. Recuperado el 20 de diciembre de 2023 de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>

Reynoso N., Torres J. (2018) Epidemiología del cáncer en México: carga global y proyecciones 2000-2020. *Revista Latinoamericana de Medicina Conductual* 8 (1).

Ribeiro, S. M. L., Jesus, A., Anjos, C. S. D., Da Silva, T. B., Da Conceição Santos, A. D., De Jesus, J. R., Andrade, M. D. S., Sampaio, T. S., Gomes, W. F., Alves, P. B., Carvalho, A. A., Pessoa, C., De Moraes, M. O., Pinheiro, M. L. B., Prata, A. P. N., Blank, A. F., Silva-Mann, R., Moraes, V. R. S., Costa, E. V., Bezerra, D. P. (2012). Evaluation of the Cytotoxic Activity of Some Brazilian Medicinal Plants. *Planta Medica*, 78(14), 1601-1606. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1315043>

Rzedowski, G. C. de y J. Rzedowski, 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (29 de marzo de 2020). Plantas medicinales de México. gob.mx. Recuperado 13 de febrero de 2023, de <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/plantas-medicinales-de-mexico?idiom=es>

Soria, Nélica. (2018). Las Plantas Medicinales y su aplicación en la Salud Pública. *Revista de salud pública del Paraguay*, 8(1), 7-8. <https://doi.org/10.18004/rspp.2018.junio.7-8>

Tello-Ortega, K. E., Hernández-Santiago, E., & Rodríguez-Ortíz, G. (2020). Medicina alternativa complementaria en el tratamiento de enfermedades crónicas en el sur de Oaxaca, México. *CIENCIA ergo sum*, 27(2), 1-10. <https://doi.org/10.30878/ces.v27n2a8>

Valtueña, J. A. (2003). Medicinas tradicionales y alternativas. *OFFARM*, 22(11), 62-66.

Vane, J. R. (1971). Inhibition of Prostaglandin Synthesis as a Mechanism of Action for Aspirin-like Drugs. *Nature. New Biology*, 231(25), 232-235. <https://doi.org/10.1038/newbio231232a0>

Velázquez-Vázquez, G., Pérez-Armendáriz, B., Martínez, L. D. O., & Nelly-Juárez, Z. (2019). Conocimiento etnobotánico sobre el uso de plantas medicinales en la Sierra Negra de Puebla, México. *Latin American And Caribbean Bulletin Of Medicinal And Aromatic Plants*, 18(3), 265-276. <https://doi.org/10.37360/blacpma.19.18.3.17>