

INDICE

RESUMEN	X
ABSTRACT	XI
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	3
ANTECEDENTES	3
1.1. Cáncer	3
1.1.1 Leucemia	4
1.1.2 Tratamientos contra la leucemia.....	5
1.2 Productos naturales	6
1.2.1 Metabolitos secundarios con actividad biológica	6
1.2.2 Anticancerígenos aislados de plantas	8
1.2.3 Terpenos y su actividad anticancerígena	8
1.3 Flora de la Península de Yucatán.....	9
1.3.1 Género <i>Phoradendron</i> y su actividad anticancerígena	10
1.3.2 <i>Phoradendron wattii</i>	11
1.4 Variación estacional de metabolitos secundarios en las plantas.....	13
JUSTIFICACIÓN.....	14
HIPOTESIS.....	15
OBJETIVO GENERAL	15
OBJETIVOS ESPECIFICOS	15
ESTRATEGÍA EXPERIMENTAL.....	16
CAPITULO II.....	18
MATERIALES Y MÉTODOS	18
2.1 Procedimientos generales	18
2.2 Sitio de colecta.....	18
2.3 Pretratamiento del material vegetal	18
2.4 Obtención de los extractos metanólicos	19
2.5 Análisis cromatográfico	19
2.6 Cultivo celular.....	20
2.7 Obtención de las células monocíticas de sangre periférica	20
2.8 Estandarización de los bioensayos	20
2.9 Análisis estadístico.....	21
2.10 Análisis de componentes principales.....	21
CAPÍTULO III	23
RESULTADOS.....	23

3.1	Espécimen objeto de estudio.....	23
3.2	Material vegetal de <i>P. wattii</i>	24
3.3	Obtención de los extractos metanólicos	25
3.4	Identificación de los tiempos de retención de los estándares	26
3.5	Identificación de los metabolitos presentes en las diferentes colectas de <i>P. wattii</i>	28
3.6	Variación estacional de los triterpenos de <i>P. wattii</i>	29
3.7	Relación entre la variación de triterpenos y las condiciones climatológicas.....	35
3.8	Estandarización de los bioensayos	36
3.9	Actividad antiproliferativa de los extractos metanólicos de <i>P. wattii</i>	38
3.10	Efecto antiproliferativo de los extractos metanólicos de <i>P. wattii</i> en CMSP	40
3.11	Análisis de componente principales	42
CAPITULO IV		46
DISCUSIÓN.....		46
4.1	Variación estacional de los extractos de <i>Phoradendron wattii</i>	46
4.2	Actividad biológica de los extractos de <i>P. wattii</i>	49
4.3	Discusión general.....	52
CAPITULO V		54
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....		54
5.1	Conclusiones.....	54
5.2	Perspectivas.....	54
ANEXOS.....		55
Anexo I. Rendimientos del pretratamiento del material vegetal y la obtención de los extractos metanólicos.....		55
Anexo II. Cromatogramas de CLAE-FR de los estándares utilizados		57
Anexo III. Cromatogramas de CLAE-FR de los extractos metanólicos de las diferentes colectas de <i>P. wattii</i>		60
Anexo IV. Curvas estándar de los compuestos identificados.....		64
Anexo V. Condiciones climáticas de Sierra Papacal.....		65
Anexo VI. Resultados de la citometría de flujo para la estandarización de las condiciones del bioensayo		66
Anexo VII. Actividad antiproliferativa de los extractos metanólicos de <i>P. wattii</i> en la línea celular K-562		69
Anexo VIII. Efecto antiproliferativo de los extractos metanólicos de <i>P. wattii</i> en células monocíticas de sangre periférica humana.		82
BIBLIOGRAFÍA.....		84

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1.1 <i>Phoradendron wattii</i> Krug & Urb	12
Figura 1.2 Compuestos aislados en <i>P. wattii</i>	13
Figura 1.3 Diagrama general de la estrategia experimental.....	17
Figura 3.1 Ejemplar de <i>Phoradendron wattii</i> utilizado en este estudio.	23
Figura 3.2 Diferentes tejidos de <i>P. wattii</i>	24
Figura 3.3 Incidencia de los diferentes tejidos de <i>P. wattii</i> a través del año.....	25
Figura 3.4 Extractos metanólicos crudos de <i>P. wattii</i> . 1) Flores y frutos (F/F), 2) tallos y 3) hojas. A) verano, B) otoño, C) invierno y D) primavera.	26
Figura 3.5 Cromatograma de CLAE-FR de la mezcla de estándares. Mezcla de estándares utilizados (Azul). 1) Betulina, 2) Ácido 3 α ,23-dihidroxi-30-oxolup-20(29)-en-28-oico, 3) Ácido 3 α ,23-dihidroxilup-20(29)-en-28-oico, 4) Ácido 3- <i>epi</i> -betulínico, 5) Ácido betulínico, 6) Ácido betulónico, 7) Ácido 3 α ,23-O-isopropilidenil-3 α ,23 dihidroxilup-20(29)-28-oico, 8) 28-O-acetilbetulona, 9) Lupenona, El) Cafeína. Inyección de metanol (rojo).	27
Figura 3.6 Cromatograma obtenido por CLAE-FR de los extractos metanólicos de <i>P. wattii</i> ..	29
Figura 3.7. Complejidad de los extractos metanólicos de las diferentes colectas de <i>P wattii</i> ...	29
Figura 3.8 Variación estacional de betulina en <i>P. wattii</i>	31
Figura 3.9 Variación estacional de ácido betulínico en <i>P. wattii</i>	31
Figura 3.10. Variación estacional de ácido betulónico en <i>P. wattii</i>	32
Figura 3.11 Variación estacional del ácido 3 α ,23-dihidroxi-30-oxolup-20(29)-en-28-oico en <i>P. wattii</i>	32
Figura 3.12 Variación estacional de lupenona en <i>P. wattii</i>	33
Figura 3.13 Variación estacional de triterpenos de tipo lupano en <i>P. wattii</i>	34
Figura 3.14 Correlaciones de la temperatura con el total de triterpenos.....	35
Figura 3.15 Correlaciones de las diferentes variables con el total de triterpenos.	36
Figura 3.16 Estandarización de las condiciones de los bioensayos utilizando citometría de flujo	37
Figura 3.17 Efecto antiproliferativo de los extractos de verano <i>P. wattii</i> en la línea celular K-562 utilizando citometría de flujo.....	38
Figura 3.18 Efecto antiproliferativo de los diferentes extractos de <i>P. wattii</i> en la línea celular K-562 utilizando citometría de flujo.	39
Figura 3.19 Efecto antiproliferativo de los extractos de primavera <i>P. wattii</i> en la línea celular K-562 utilizando citometría de flujo.	40
Figura 3.20 Efecto antiproliferativo de los extractos de <i>P. wattii</i> en CMSP utilizando citometría de flujo.....	41
Figura 3.21 Proporción de varianza explicada como la proporción de varianza acumulada por cada componente principal.	43
Figura 3.22 Plano bidireccional del análisis de componentes principales.....	43

RESUMEN

Phoradendron wattii es una planta nativa de la península de Yucatán que promete ser una fuente de metabolitos novedosos con actividad antiproliferativa. Sin embargo, no se ha estudiado el perfil bioquímico de estos metabolitos y su variación debido al cambio de las condiciones climáticas. El objetivo de este proyecto es el de evaluar la variación estacional y la actividad antiproliferativa de triterpenos de tipo lupano, obtenidos del extracto metanólico de *Phoradendron wattii*. Se realizó la colecta del material vegetal durante las distintas estaciones del año distinguiendo entre los tejidos de las flores y frutos (F/F), tallos y hojas de la planta, obteniéndose extractos metanólicos de cada una de las colectas. Se realizó cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) en cada uno de los extractos metanólicos y se comprobó su actividad antiproliferativa ante una línea celular de leucemia mieloide crónica (K-562). El contenido total de una mezcla de cinco triterpenos de tipo lupano alcanzó su mayor concentración en las estaciones de otoño y primavera (32.94 ± 0.79 mg/g y 31.82 ± 2.34 mg/g, respectivamente) y su valor más bajo en invierno (17.13 ± 0.41 mg/g). De igual manera, se demostró la mayor actividad antiproliferativa contra las células de leucemia linfocítica (K-562) con el extracto de las hojas en verano. Los resultados indican que la colecta de *P. wattii* durante las estaciones de otoño y primavera es más eficiente para la obtención de triterpenos de tipo lupano.

ABSTRACT

Phoradendron wattii is a plant native to the Yucatan Peninsula that promises to be a source of novel metabolites with antiproliferative activity. However, the biochemical profile of these metabolites and their variation due to climatic conditions have not been studied. The objective of this project is to evaluate the seasonal variation and the antiproliferative activity of lupane-type triterpenes, obtained from the methanolic extracts of *Phoradendron wattii*. The plant material was collected during the different seasons of the year, distinguishing between the tissues of the flowers and fruits (F/F), stems, and leaves of the plant, obtaining methanolic extracts from each one of the collections. High performance liquid chromatography was performed on each of the methanolic extracts and their antiproliferative activity against a chronic myeloid leukemia cell line (K-562) was verified. A total of five lupane-type triterpenes were identified and the mixture reached its highest concentration in the autumn and spring seasons (32.94 ± 0.79 mg/g and 31.82 ± 2.34 mg/g, respectively) and its lowest value in winter (17.13 ± 0.41 mg/g). The highest antiproliferative activity against lymphocytic leukemia cells (K-562) was achieved with the summer leaf extract. The results indicate that the collection of *P. wattii* during the autumn and spring seasons gives the highest yield of lupane-type triterpenes.
