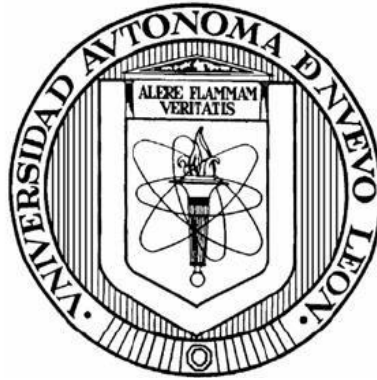


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



EVALUACIÓN DE COMPUESTOS AISLADOS DE *LOPHOCEREUS*
MARGINATUS (DC.) S. ARIAS & TERRAZAS EN LA EXPRESIÓN DE GENES
RELACIONADOS CON MUERTE CELULAR EN EL MODELO *IN VITRO* E *IN*
VIVO DE LINFOMA MURINO L5178Y-R

POR

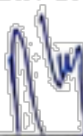
M.C. ÁNGEL DAVID TORRES HERNÁNDEZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN
CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN INMUNOBIOLOGÍA

2026

**EVALUACIÓN DE COMPUESTOS AISLADOS DE *LOPHOCEREUS*
MARGINATUS (DC.) S. ARIAS & TERRAZAS EN LA EXPRESIÓN DE GENES
RELACIONADOS CON MUERTE CELULAR EN EL MODELO *IN VITRO* E *IN*
VIVO DE LINFOMA MURINO LS178Y-R**

Comité de Tesis



Dr. Ricardo Alberto Gómez Flores

Director de tesis



Dra. Patricia Tamez Guerra

Secretario



Dr. Ramiro Quintanilla Licea

Vocal 1



Dra. Diana Elia Caballero Hernández

Vocal 2



Dr. César Iván Romo Sáenz

Vocal 3



Dra. Katrzhka Arévalo-Niño

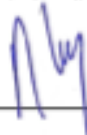


**SUBDIRECCIÓN
DE POSGRADO**

Subdirectora de Posgrado

EVALUACIÓN DE COMPUESTOS AISLADOS DE *LOPHOCEREUS MARGINATUS* (DC.) S.
ARIAS & TERRAZAS EN LA EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON MUERTE
CELULAR EN EL MODELO *IN VITRO* E *IN VIVO* DE LINFOMA MURINO L5178Y-R

Dirección de Tesis



Dr. Ricardo Alberto Gómez Flores

Director de tesis

DERECHOS RESERVADOS©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

FINANCIAMIENTO

Este trabajo fue financiado por la Secretaría de Ciencias, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI, México), a través de la beca al CVU 445572 que corresponde al Dr. César Iván Romo Sáenz.

El Programa de Apoyo a la investigación Científica y Tecnológica (PAICYT) de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL). Folio PAICYT-UANL 303-CN-2022 del Dr. Ramiro Quintanilla Licea.

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Ciencias, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca "Becas Nacional (Tradicional) 2022 - 1" y por los apoyos complementarios de "Maternidad o Paternidad para Becas Nacionales 2024 - 1" y "Movilidad en el Extranjero, Movilidad Nacional, Movilidad en los Sectores de Interés y Movilidad para Programas de Doble Titulación 2025", otorgados al CVU 950148.

Al Dr. Ricardo Gómez Flores, Dr. Ramiro Quintanilla Licea, Dr. César Iván Romo Sáenz, a la Dra. Patricia Tamez Guerra y Dra. Diana Caballero, miembros de comité de tesis que hicieron posible el desarrollo de este trabajo. Y al Dr. Joel Horacio Elizondo Luévano, parte fundamental del equipo de trabajo.

A mi mamá María Consuelo Hernández Garza, papá Eloy Torres de León y mi hermana la Maestra Adriana Patricia Torres Hernández por todo su apoyo, confianza y comprensión.

Al Dr. José Luis Zacarias Hernández amigo incondicional, compadre y colega, quien me ha brindado su apoyo en este viaje desde el primer día de clases de Q.B.P. en el 2009 y con quien espero continuar en este nuevo camino de la investigación.

A la Dra. Lourdes Grijalva por el tiempo, las buenas pláticas de ciencia, comida, arte y música que compartimos.

A la Q.B.P. Wendy Pedraza por tu amistad y tus consejos en los buenos y malos momentos.

A las compañeras del equipo de trabajo de la Unidad de Inmunobiología y Acarreadores de Drogas, Viviana Martínez Plascencia, Diana Clark, Jesica, Maribel, Ana, Nancy y Angello por su apoyo.

A las compañeras del laboratorio de Inmunología y Virología Unidad A/ Unidad de Formulados Biológicos, la Sra. Rosy, Lic. Nora Mares, M.C. Enriqueta Monreal, al Dr. Alonso Orozco y Dra. Julissa Ek Ramos jefa de la unidad.

A la Dra. Cristina Rodríguez Padilla y Dra. Ana Carolina Torres por permitirme trabajar y ser parte del Laboratorio de Inmunología y Virología de la Facultad de Ciencias Biológicas.

DEDICATORIA

Dedicado a mi hija Andrea Viviana Torres López.

ÍNDICE

<i>ÍNDICE</i>	<i>I</i>
<i>ÍNDICE DE TABLAS</i>	<i>IV</i>
<i>ÍNDICE DE FIGURAS</i>	<i>V</i>
<i>LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS</i>	<i>VI</i>
<i>RESUMEN</i>	<i>VIII</i>
<i>ABSTRACT</i>	<i>IX</i>
<i>1. INTRODUCCIÓN</i>	<i>1</i>
<i>2. ANTECEDENTES</i>	<i>2</i>
2.1 Cáncer	<i>2</i>
2.2 Muerte celular	<i>3</i>
2.3 Tratamientos	<i>4</i>
2.4 Productos naturales: plantas y metabolitos secundarios	<i>4</i>
2.5 Productos naturales y cáncer.....	<i>5</i>
2.6 Cactáceas	<i>6</i>
2.7 <i>Lophocereus marginatus</i> (DC.) S. Arias & Terrazas.....	<i>6</i>
2.8 Metabolitos de <i>Lophocereus marginatus</i>	<i>7</i>
2.9 Actividad biológica.....	<i>7</i>
<i>4. HIPÓTESIS</i>	<i>9</i>
<i>5. OBJETIVO DEL TRABAJO</i>	<i>10</i>
5.1 Objetivo general.....	<i>10</i>
5.2 Objetivos específicos	<i>10</i>
<i>6. MATERIAL Y MÉTODOS</i>	<i>11</i>
6.1 Material vegetal	<i>11</i>
6.2 Extractos y particiones.....	<i>11</i>

6.2.1	Obtención de extracto metanólico crudo mediante extracción Soxhlet.	11
6.2.2	Obtención de particiones a partir del extracto metanólico.....	11
6.3	Análisis cromatográfico	12
6.3.1	Cromatografía en columna.....	12
6.3.2	Cromatografía en capa fina	14
6.4	Análisis fitoquímico.....	14
6.5	Análisis <i>in vitro</i>	15
6.5.1	Cultivos celulares	15
6.5.2	Análisis de los extractos contra la línea de linfoma murino L5178Y-R	16
6.6	Análisis de actividad hemolítica de extractos.....	17
6.7	Análisis antioxidante.....	17
6.8	Análisis de la expresión de genes de muerte celular	17
6.8.1	Extracción de ARN y obtención de ADNc	17
6.8.2	Análisis de qPCR	18
6.9	Modelo murino	19
6.9.1	Selección y cuidado animal.....	19
6.9.2	Análisis de toxicidad de la fracción FSC8 en ratones BALB/c	19
6.9.3	Ensayo antitumoral de la fracción FSC8.....	21
6.10	Análisis estadístico	21
7.	RESULTADOS	23
7.1	Rendimientos de extracción inicial.....	23
7.2	Actividad antioxidante	23
7.3	Determinación de la actividad hemolítica	25
7.4	Actividad citotóxica de los extractos y particiones contra la línea celular L5178Y-R y PBMC	25
7.5	Fracción supercolectiva FSC8	26
7.6	Análisis fitoquímico cualitativo de la fracción FSC8.....	30
7.7	Análisis de la expresión de genes de muerte celular en la línea celular L5178Y-R inducido por FSC8.....	31

7.8	Ensayo <i>in vivo</i> de toxicidad sistémica de la fracción FSC8 en un modelo murino.....	32
7.9	Ensayo antitumoral de FSC8 en modelo murino	35
8.	<i>DISCUSIÓN</i>	37
9.	<i>CONCLUSIONES</i>	42
10.	<i>PERSPECTIVAS</i>	43
11.	<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Eluciones de columna.	12
Tabla 2. Secuencias de primers utilizados.	18
Tabla 3. Rendimientos de extracción Soxhlet del extracto crudo y particiones.	23
Tabla 4. Actividad antioxidante del extracto crudo y particiones.	24
Tabla 5. Actividad hemolítica IC ₅₀ del extracto crudo y particiones.	25
Tabla 6. Actividad inhibitoria IC ₅₀ del extracto crudo y particiones.	25
Tabla 7. Rendimientos de fraccionamiento de la partición clorofórmica.	26
Tabla 8. <i>R_f</i> calculado en visualización con luz visible.	27
Tabla 9. <i>R_f</i> calculado en revelado con luz UV a 254 nm.	27
Tabla 10. <i>R_f</i> calculado en revelado con luz UV a 365 nm.	28
Tabla 11. <i>R_f</i> calculado en revelado con yodo.	28
Tabla 12. Actividad inhibitoria IC ₅₀ del extracto crudo y particiones.	28
Tabla 13. Análisis fitoquímico de la fracción FSC8.	31
Tabla 14. Perfil bioquímico sanguíneo de ratones BALB/c.	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Puntaje clínico para el monitoreo de la salud animal. Tabla obtenida de Clark-Pérez et al. (2024).	20
Figura 2. Porcentajes de actividad antioxidante de las particiones obtenidas de un extracto metanólico de <i>L. marginatus</i> . Ext. C: Extracto crudo; P. M: Partición metanólica; P. Cl: Partición clorofórmica; P. Hx: Partición hexánica.	24
Figura 3. Cromatografía en capa fina. Visualización en luz visible (a); revelado en luz UV a 254 nm (b); revelado en luz UV a 365 nm (c); Revelado con yodo (d).	27
Figura 4. Actividad hemolítica de la fracción FSC8.	30
Figura 5. Porcentajes de actividad antioxidante de la fracción FSC8.	30
Figura 6. Expresión relativa de genes inducidos por el tratamiento de FSC8 en la línea celular L5178Y-R. (a) gen p53; (b) gen Bcl-2; (c) gen BAX; (d) gen PARP1; (e) gen AKT; (f) gen NRF2. Los resultados en las gráfica se muestra en escala Log ₂ .	32
Figura 7. Promedios de consumo de alimento y agua de ratón por día.	33
Figura 8. Peso corporal de ratones tratados con FSC8, grupo control vehículo y control sin tratamiento durante 14 d. ns: no significativo, * $p < 0.05$ and **** $p < 0.01$.	33
Figura 9. Análisis histológico de hígado de ratones BALB/c. Tinción hematoxilina y eosina. Imagen observada a 40 x. Imagen (a): corte histológico correspondiente al grupo control; imagen (b): correspondientes al grupo vehículo; imagen (c): correspondientes al grupo tratado con 100 mg/kg de la fracción FSC8.	35
Figura 10. Volumen tumoral de ratones en mm ³ .	35
Figura 11. Probabilidad de supervivencia en el tratamiento con la fracción FSC8.	36

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

pH	Potencial de hidrógeno
ROS	Especies reactivas de oxígeno
Bcl-2	Proteínas del linfoma de células B 2
Bcl-xL	Proteína similar a Bcl-2 1
Bcl-w	Proteína similar a Bcl-2 2
Mcl-1	Proteína leucemia mieloide 1
Bfl-1/A1	Proteína A1 relacionada con Bcl-2
Bax	Proteína X asociada a Bcl-2
Bad	Promotor de muerte asociado a Bcl-2
Bak	Proteína destructora del antagonista homólogo Bcl-2
BH3	Proteína de dominio BH3
Bid	Agonista de muerte del dominio de interacción BH3
Bik	Asesino interactivo de Bcl-2
Bim	Mediador interactivo de muerte celular con Bcl-2
PUMA	Modulador de apoptosis regulado positivamente por p53
IAP	Proteínas inhibidoras de la apoptosis
TRAF	Factor asociado al receptor del factor de necrosis tumoral
XIAP	Proteína inhibidora de la apoptosis ligada al cromosoma X
PARP-1	Poli(ADP-ribosa) polimerasa 1
p53	Proteína tumoral p53
DC.	de Candolle, Agustin Pyrame
%	Porcentaje
mL	Mililitros
°C	Grado Celsius
g	Gramos
nm	Nanómetros
mm	Milímetros
min	Minutos
h	Horas
NaOH	Hidróxido de sodio
HCl	Ácido clorhídrico

FeCl₃	Cloruro férrico
Abs	Absorbancia
rpm	Revoluciones por minuto
CO₂	Dióxido de carbono
≥	Mayor o igual que
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
qPCR	PCR en tiempo real
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	ácido ribonucleico
ADNc	ADN complementario

RESUMEN

Este estudio evaluó el potencial antitumoral de *Lophocereus marginatus* mediante un enfoque integral que incluyó análisis citotóxicos, selectividad celular, caracterización fitoquímica y evaluación *in vivo* en un modelo murino de linfoma L5178Y-R. El extracto crudo presentó una IC₅₀ de 9.09 µg/mL y un índice de selectividad (IS) de 330.03, sin actividad hemolítica a 1000 µg/mL. Las particiones hexánica, clorofórmica y metanólica mostraron IC₅₀ de 6.74, 7.93 y 45.38 µg/mL, respectivamente, destacando la fracción clorofórmica por su adecuada combinación de potencia y seguridad.

El fraccionamiento cromatográfico de esta partición permitió aislar la fracción FSC8, la cual exhibió una IC₅₀ de 11.20 µg/mL, IS de 354.29, actividad antioxidante (IC₅₀ = 62.78 µg/mL) y ausencia de hemólisis a 1000 µg/mL. El análisis fitoquímico cualitativo reveló la presencia de fenoles, triterpenos y esteroides, metabolitos asociados con propiedades anticancerígenas y moduladoras del estrés oxidativo.

A nivel molecular, FSC8 indujo sobreexpresión de p53, NRF2, AKT y Bcl-2, junto con disminución de BAX, lo que sugiere una regulación compleja entre mecanismos de respuesta al daño, señalización de supervivencia celular y modulación apoptótica. La expresión moderada de PARP1 indica posible activación de procesos de reparación del ADN.

En el modelo BALB/c, la administración de FSC8 no produjo alteraciones significativas en peso corporal, enzimas hepáticas ni parénquima hepático. Asimismo, prolongó la supervivencia hasta 13 días. En conjunto, los resultados posicionan a FSC8 como un candidato prometedor para el desarrollo de agentes antitumorales selectivos con perfil de seguridad favorable.

ABSTRACT

This study evaluated the antitumor potential of *Lophocereus marginatus* using a comprehensive approach that included cytotoxic analysis, cell selectivity, phytochemical characterization, and in vivo evaluation in a murine model of L5178Y-R lymphoma. The crude extract presented an IC₅₀ of 9.09 µg/mL and a selectivity index (SI) of 330.03, with no hemolytic activity at 1000 µg/mL. The hexane, chloroform, and methanol partitions showed IC₅₀ values of 6.74, 7.93, and 45.38 µg/mL, respectively, with the chloroform fraction standing out for its adequate combination of potency and safety.

Chromatographic fractionation of this partition allowed the isolation of fraction FSC8, which exhibited an IC₅₀ of 11.20 µg/mL, IS of 354.29, antioxidant activity (IC₅₀ = 62.78 µg/mL), and absence of hemolysis at 1000 µg/mL. Qualitative phytochemical analysis revealed the presence of phenols, triterpenes, and steroids, metabolites associated with anticancer and oxidative stress-modulating properties.

At the molecular level, FSC8 induced overexpression of p53, NRF2, AKT, and Bcl-2, along with a decrease in BAX, suggesting complex regulation between damage response mechanisms, cell survival signaling, and apoptotic modulation. Moderate expression of PARP1 indicates possible activation of DNA repair processes.

In the BALB/c model, FSC8 administration did not produce significant alterations in body weight, liver enzymes, or liver parenchyma. It also prolonged survival to 13 days. Taken together, the results position FSC8 as a promising candidate for the development of selective antitumor agents with a favorable safety profile.

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer es considerado un conjunto de enfermedades que afectan diversos órganos debido a un crecimiento rápido e incontrolado de células anormales (OMS 2022). Hoy en día la Ciudad de México, Nuevo León, Sonora, Sinaloa y Chihuahua son los estados de la República Mexicana con más afectaciones por neoplasias, generando un total de 75 muertes por cada 100,000 habitantes (IARC 2022). Los tratamientos de primera línea como lo es la cirugía, radioterapia y quimioterapia pueden ser ineficientes y a su vez llegan a desencadenar reacciones adversas como la toxicidad sistémica, la cual afecta la calidad de vida del paciente y resistencia celular (Nurgali et al. 2018). A través del tiempo, las plantas han servido como alternativa para tratar diversas afecciones humanas y se han convertido en una fuente de fácil disposición de nuevos compuestos, constituyendo una gran parte de los agentes farmacéuticos actuales en el ámbito de la terapia contra el cáncer (Khan et al. 2019; Huang et al. 2021). *Lophocereus marginatus* es una cactácea endémica de México que se destaca por su uso etnobotánico contra enfermedades renales, gastrointestinales y recientemente por su descrita actividad antitumoral (Gómez-Flores et al. 2019), de la cual se ha reportado la presencia de lofenol, b-sitosterol y ácido palmítico aislados de un extracto hexánico. Sin embargo, los extractos de polaridad media y alta siguen mostrando actividad en ensayos *in vitro* y los estudios actuales no son suficientes para demostrar los mecanismos de acción de los compuestos o moléculas producidas por estas especies. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue identificar y evaluar el efecto inhibitorio y antitumoral *in vitro* e *in vivo* de los compuestos bioactivos de *L. marginatus* y determinar la expresión de genes relacionados con la muerte celular, en el modelo de linfoma murino L5178Y-R.

2. ANTECEDENTES

2.1 Cáncer

Cáncer es un término amplio utilizado para aludir a un conjunto de enfermedades que se pueden originar en casi cualquier órgano o tejido del cuerpo debido a un crecimiento descontrolado de células anormales, propagándose a otros órganos produciendo metástasis (neoplasia/ tumor maligno) (OMS 2022). Es la segunda causa de muerte en el mundo provocando millones de muertes al año; tan solo en el año 2020 se presentaron 19.3 millones de casos y ocasionó 9.9 millones de defunciones (IARC 2022; Sung et al. 2021).

Globalmente el cáncer de mama lidera la lista como el cáncer más diagnosticado con un estimado de 2.3 millones de casos nuevos (11.7%), seguido por cáncer de pulmón (11.4%), cáncer de colon (10%), cáncer de próstata (7.3%) y cáncer de estómago; no obstante, el cáncer de pulmón mantiene el primer lugar en mortalidad con un estimado de 1.8 millones de muertes (18%), seguido de colon (9.4%), hígado (8.3%), estómago (7.7%) finalizando con mama (6.9%) (Sung et al. 2021).

Los linfomas son un grupo heterogéneo de neoplasias malignas de los tejidos linfoides que se originan en diversos progenitores de células B y células T. Los linfomas se clasifican en linfoma no Hodgkin (LNH), de mayor frecuencia y el cual se disemina vía sanguínea, y linfoma de Hodgkin (LH), que se disemina principalmente por extensión linfática contigua. (Pérez-Zúñiga et al., 2018).

En México se estiman 190,000 nuevos casos y más de 83,000 muertes por cáncer al año, representando la tercera causa de mortalidad en el país. Aunado a esto, la alta prevalencia de factores de riesgo y las carentes medidas de detección primaria y secundaria, propiciarían que el impacto del cáncer podría traer consecuencias devastadoras para el sistema de salud de nuestro país (Brau-Figueroa et al. 2020).

Actualmente el cáncer es uno de los mayores retos en salud pública con un reporte de con 91,526 muertes en el 2023 en México. Los tumores malignos se han mantenido como la primera causa de mortalidad, posicionando a los estados de Chihuahua, Baja California Sur y Sonora entre los primeros tres más afectados y generando a nivel nacional tasas de mortalidad de 70.8 defunciones por cada 100,000 habitantes (INEGI 2025).

2.2 Muerte celular

La muerte celular es un proceso fisiológico básico, involucrado en el desarrollo y mantenimiento de la homeostasis celular, mediante un conjunto de mecanismos genéticos que está estrechamente regulado por señales que puede desencadenarse cuando las células no pueden mantener las funciones vitales fundamentales, terminando en el cese o paro de funciones (Dehghan et al. 2023; Shen et al. 2023).

Existen dos mecanismos de muerte celular primaria, muerte celular programada y muerte celular accidental o necrosis. La muerte programada se promueve mediante vías moleculares en respuesta a un factor estimulante de manera intrínseca o extrínseca, iniciando un proceso moderado de destrucción celular, resultando en una mayor eficiencia y menor daño a la homeostasis del entorno circundante (Mustafa et al. 2024).

La muerte celular accidental se refiere a un estado en el que la célula sufre un cese rápido y caótico como resultado de ser sometida a lesiones repentinas (alta temperatura, alta presión, fuerzas mecánicas, toxicidad, radiación de alto volumen y cambios extremos de pH) (Dehghan et al. 2023).

La vía extrínseca se inicia por ligandos extracelulares que se unen a receptores de muerte específicos en la superficie de la membrana plasmática. La unión del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y Fas, a sus respectivos receptores desencadena un proceso apoptótico propagados por la caspasa 8 (Casp-8) y efectuado por la caspasa 3 (Casp-3) (Galuzzi 2018; Mustafa et al. 2024).

La vía intrínseca o mitocondrial es activada por agentes oxidantes, toxinas, medicamentos o radiación ionizante, que inducen la sobreproducción de especies reactivas del oxígeno (ROS) y estrés oxidativo. Se caracteriza por la translocación del citocromo c de la mitocondria hacia el citoplasma, activando la Casp-9 y está regulada por proteínas anti-apoptóticas BCL2 (Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Mcl-1, Bfl-1/A1), pro-apoptóticas (Bax, Bad, Bak) y la familia BH3 (Bid, Bik, Bim, NOXA, PUMA) (Chimento et al. 2023).

Numerosas enzimas y vías de señalización celular se modulan durante la apoptosis, y la disfunción de las vías de muerte celular se asocia con el inicio y la progresión de la carcinogénesis; los productos de los protooncogenes incluyen factores de

transcripción, factores de crecimiento, receptores de factores de crecimiento, transductores de señales y reguladores de la apoptosis (Caldwell 2019).

2.3 Tratamientos

Los tratamientos más utilizados en la actualidad para el cáncer, son la quimioterapia y radioterapia, sin embargo, siguen siendo costosos y perjudiciales para el paciente por las reacciones adversas como náuseas, vómito, pérdida de peso, anemia, anorexia, toxicidad neurogénica, cardíaca, pulmonar, y renal por mencionar algunos, reduciendo considerablemente la calidad de vida y desalienta a los pacientes a someterse al tratamiento, favoreciendo la progresión del cáncer y complicaciones sociales (Nurgali et al. 2018). La resistencia sigue siendo un obstáculo crítico para el éxito de los quimioterapéuticos tumorales, esta se mantiene prevalente y aproximadamente el 80-90% de las muertes en pacientes con cáncer se atribuyen directa o indirectamente a la resistencia a los fármacos (Yuan et al. 2017; Zhou et al. 2020).

2.4 Productos naturales: Plantas y metabolitos secundarios

Los productos naturales aislados de las plantas medicinales se han utilizado para el tratamiento de diversas enfermedades desde la antigüedad. El primer uso de productos naturales como medicina se remonta al 2600 AC en Mesopotamia. Del mismo modo, la medicina tradicional china está bien documentada desde hace miles de años (Dutta et al. 2019).

Se ha descrito que la actividad biológica de las plantas deriva de los compuestos resultantes de su metabolismo secundario, los cuales actúan como un mecanismo de defensa contra factores ambientales y biológicos (Anand et al. 2019). Estos metabolitos se pueden clasificar en diversos grupos como alcaloides, compuestos fenólicos y polifenoles, terpenos, flavonoides, cumarinas, entre otros. Estas moléculas poseen una diversidad de actividades biológicas como antioxidantes, antimicrobianos, antifúngicos y sobre todo antineoplásicos (Khameneh et al. 2019).

Debido a la notable diversidad química de la naturaleza, los productos naturales se consideran una rica reserva de compuestos bioactivos con potencial terapéutico. El

aislamiento de agentes químicos derivados de plantas y otros organismos vivos, ha conducido al descubrimiento de un conjunto de fármacos anticancerígenos, calculando que entre 1981 y 2019, aproximadamente el 25% de todos los nuevos fármacos anticancerígenos aprobados estaban relacionados con productos naturales (Huang et al. 2021).

En la actualidad, los productos naturales constituyen una gran parte de los agentes farmacéuticos actuales, sobre todo en el ámbito de la terapia del cáncer. Algunos ejemplos son el paclitaxel, vinblastina, vincristina, camptotecina y el etopósido. Algunos de estos compuestos siguen siendo el pilar de la terapia contra el cáncer y seguirán desempeñando un papel fundamental en un futuro próximo (Khan et al. 2019; Huang et al. 2021).

2.5 Productos naturales y cáncer

Las células cancerosas han demostrado ser más sensibles a las acciones de los polifenoles que las células normales. La mayoría de los polifenoles bien estudiados inducen apoptosis, esto ocurre en algunas líneas celulares a diferentes concentraciones al influir directamente en diferentes vías apoptóticas y/o en la expresión de proteínas reguladoras (Brglez Mojzer et al. 2016; Chimento et al. 2023).

Se ha determinado que los metabolitos secundarios aumentan las proteínas apoptóticas Bad, Bax, Bak, Bim y también se describe que regulan a la baja proteínas anti apoptóticas como Bcl-2, IAP 1- 2, Mcl-1 y TRAF-1 (Sevastre et al. 2022; Chimento et al. 2023).

Brglez Mojzer (2016) describe la actividad de las catequinas (flavonoles), las cuales actúan como pro-oxidantes induciendo la formación de peróxido de hidrógeno (H_2O_2). El compuesto epigallocatequina-3-galato detiene el ciclo celular en la fase G1 y fase S, lo que resulta en apoptosis.

Chimento (2023) reporta para el cáncer de próstata, a la apigenina como inductor de apoptosis, por el aumento de la expresión de la proteína BAX, la liberación del citocromo C y la disminución de proteínas XIAP, c-IAP1, c-IAP2, Bcl-2 y Bcl-xL. Además, la apoptosis inducida por apigenina se relacionó con la expresión de p53, el

aumento de la relación Bax/Bcl-2, la activación de caspas-9 y 8 y PARP-1 en células malignas de mesotelioma.

Huang et al (2021) describe la nimbolida como un terpeno anticancerígeno derivado del árbol de Neem, que actúa al unirse a una cisteína funcional para el reconocimiento de sustrato de la ligasa E3 RNF114, lo que lleva a la inhibición de la ubiquitinización y evita la degradación de los supresores tumorales como la proteína p21.

2.6 Cactáceas

Las especies de cactus son plantas que se describen como una flora distinta que se puede encontrar en las zonas áridas de todo el mundo. La familia *Cactaceae* tiene una distribución principalmente tropical, comprende 124 géneros y 1,438 especies distribuidas en el mundo. Han sido utilizadas con fines diversos, como alimento, forraje y como plantas medicinales. En este último sentido, han sido aprovechadas en la medicina tradicional durante épocas por los pueblos antiguos para curar diversas enfermedades (Das et al. 2021).

2.7 *Lophocereus marginatus* (DC.) S. Arias & Terrazas

Lophocereus es un género de cactus el cual a menudo se ha fusionado o correlacionado con el género *Pachycereus*, el cual fue separado a partir de una revisión por Arias & Terrazas en el (2009). Actualmente es aceptado por Plants of the World Online (proyecto del Royal Botanic Gardens, Kew) como sinónimo a partir de marzo de 2021 (POWO 2022).

La cactácea *L. marginatus*, también conocida como *Pachycereus marginatus*, *Stenocereus marginatus*, *Cereus marginatus*, y conocido por su nombre común como cactus pipa de órgano, tiene troncos columnares que alcanzan los 6 metros de altura y se utiliza comúnmente como forraje, cercas vivas, leña y como medicina alternativa para tratar infecciones gastrointestinales (Gómez-Flores et al. 2019). Crece de forma silvestre en estados de México de clima seco y cálido como Nuevo León, Aguascalientes, Tamaulipas, Morelos, Veracruz (Arias & Terrazas 2009).

2.8 Metabolitos de *Lophocereus marginatus*

El género *Pachycereus* es conocido por la presencia de alcaloides en algunas de sus especies (Arias et al., 2003), por lo que se ha reportado para *Pachycereus pecten-aboriginum* (Engelm. Ex S. Watson) la presencia de pectenina y para *Pachycereus schottii* (Engelman) el alcaloide pilocereina (Cassels 2019; Djerassi et al. 1954). Para *Pachycereus marginatus* se ha reportado la presencia de los compuestos lofenol, β -sitosterol y ácido palmítico derivados de un fraccionamiento biodirigido (Samaniego-Escamilla 2016).

2.9 Actividad biológica

El extracto metanólico crudo derivado de *P. marginatus* reveló una notable actividad citotóxica contra la línea celular L5178Y-R, con una inhibición de hasta el 92% a la menor concentración probada (3.9 $\mu\text{g/mL}$), manteniendo su actividad hasta la concentración de 500 $\mu\text{g/mL}$ (Quintanilla-Licea et al. 2016).

Se reportó la acción citotóxica del extracto hexánico, clorofórmico, metanólico y la partición acuosa de metanol de *P. marginatus* contra melanoma en células B16F10. Los extractos causaron una citotoxicidad del 39% (100 $\mu\text{g/mL}$), 43 al 51% (25 a 100 $\mu\text{g/mL}$), del 44 al 48% (25 a 100 $\mu\text{g/mL}$) y del 40 al 42% (25 a 100 $\mu\text{g/mL}$) para cada uno de los extractos respectivamente (Humberto et al. 2016).

Los compuestos aislados de *P. marginatus*, lofenol, β -Sitosterol y ácido palmítico, tienen reporte de actividad biológica con un porcentaje de inhibición a 250 $\mu\text{g/mL}$ de 89%, 70% y 85% respectivamente contra línea L5178Y-R (Gómez-Flores et al. 2019).

Se demostró que la administración del extracto acuoso de *P. marginatus*, no induce daño hepático a una concentración de 0.5 mg/kg en ratones BALB/c. También se reportó que la administración oral del extracto acuoso en un modelo tumoral murino propició la supervivencia en un 60%, 20% más, en comparación con el 40% de supervivencia obtenido con el tratamiento del agente antitumoral vincristina. (Gómez-Flores et al. 2019).

3. JUSTIFICACIÓN

En México, el cáncer sigue manteniéndose como un problema de salud, generando más de 90,000 mil muertes en el 2023, e incidencias a nivel nacional, con una tasa de mortalidad de 70.8 defunciones por cada 100,000 habitantes. Los tratamientos convencionales utilizados en las quimioterapias contra el cáncer suelen presentar diversos efectos secundarios debido a su alta toxicidad y debido a la resistencia de las células cancerosas contra las terapias convencionales se ha convertido en un obstáculo en la eficacia del tratamiento, afectando directamente a los pacientes y disminuyendo su calidad de vida.

A través del tiempo las plantas se han mantenido como alternativa para tratar diversas afecciones. Hoy en día son consideradas una fuente de nuevos compuestos constituyendo una gran parte de los agentes farmacéuticos actuales en el ámbito de la terapia contra el cáncer. Por esta razón, existe la necesidad de buscar nuevos compuestos con actividad antitumoral que sean más eficaces y a su vez menos tóxicos para el paciente, para así reducir los efectos secundarios. Es por esto que en el presente trabajo se evaluó la fracción clorofórmica y se caracterizaron los compuestos bioactivos de *Lophocereus marginatus* con actividad antitumoral y su influencia en la expresión de genes de muerte celular, en el modelo del linfoma murino L5178Y-R.

4. HIPÓTESIS

Compuestos bioactivos presentes en la fracción clorofórmica de *Lophocereus marginatus* inducen la expresión de genes relacionados con muerte celular en los modelos *in vitro* e *in vivo* del linfoma murino L5178Y-R.

5. OBJETIVO DEL TRABAJO

5.1 Objetivo general

- Determinar el efecto citotóxico de los compuestos bioactivos de *Lophocereus marginatus* y el nivel de expresión de genes relacionados con muerte celular en los modelos *in vitro* e *in vivo* del linfoma murino L5178Y-R.

5.2 Objetivos específicos

- Evaluar la actividad citotóxica del extracto crudo metanólico de *Lophocereus marginatus* contra la línea celular L5178Y-R *in vitro*.
- Aislar, identificar y evaluar la actividad citotóxica de los metabolitos secundarios presentes en la fracción clorofórmica.
- Evaluar el nivel de expresión de genes relacionados con la muerte celular inducido por los compuestos aislados.
- Determinar la actividad de los compuestos aislados en un modelo *in vivo* de linfoma murino L5178Y-R.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Material vegetal

El material vegetal fue recolectado en la ciudad de Guanajuato, Guanajuato, México (102°5'49.2"O a 99°40'16.68"O 19°54'46.08"N a 21°50'21.84"N). Los especímenes fueron identificados por la Dra. María Magdalena Salinas Rodríguez en el Herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Nuevo León, México, con vóucher de referencia 25588.

6.2 Extractos y particiones

6.2.1 Obtención de extracto metanólico crudo mediante extracción Soxhlet

Se colocaron 75 g de material vegetal seco y molido en un cartucho de celulosa dentro de un extractor Soxhlet (Quintanilla-Licea et al. 2016), el cual se montó sobre una plancha térmica con agitación constante para mantener la destilación del solvente durante 48 h, utilizando 500 mL de metanol como solvente de extracción inicial. Terminado el tiempo de extracción, el extracto se filtró utilizando filtros Whatman N° 1 (Cytiva Global Life Sciences Solutions, Marlborough, MA, USA) y se eliminó el solvente mediante evaporación al vacío en un rotavapor Buchi-3000 (Labortechnik AG, Switzerland) a 35 °C hasta obtener un volumen de 50 mL. Posteriormente, el extracto se terminó de concentrar en un desecador de vidrio al vacío, hasta eliminar el solvente en su totalidad.

6.2.2 Obtención de particiones a partir del extracto metanólico

Se colocaron 10 g del extracto metanólico crudo en un cartucho de celulosa dentro del extractor Soxhlet, el cual se montó sobre una plancha térmica con agitación constante para mantener la destilación de los solventes durante 24 h en cada extracción. La extracción consecutiva inició con 500 mL de hexano, luego 500 mL cloroformo y 500 mL de metanol (Gómez-Flores et al. 2019). Las particiones se filtraron utilizando un filtro Whatman N° 1 (Cytiva Global Life Sciences Solutions) y se eliminó el solvente mediante evaporación a vacío en un rotavapor Buchi-3000 (Labortechnik AG) a 35 °C

hasta obtener un volumen de 50 mL. Posteriormente, el extracto se terminó de concentrar en un desecador de vidrio al vacío hasta eliminar el solvente en su totalidad.

Los porcentajes del rendimiento de extracción se calcularon mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \left(\frac{\text{Peso final del extracto}}{\text{Peso inicial de la planta seca}} \right) \times 100$$

6.3 Análisis cromatográfico

6.3.1 Cromatografía en columna

El fraccionamiento de 500 mg de partición clorofórmica se realizó en columna cromatográfica de 25 g de sílica gel fase normal de 0.063 a 200 mm (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) suspendida en cloroformo como solvente de empaquetamiento (Rodríguez-Garza et al. 2024). Las eluciones de 20 mL se realizaron en gradientes de polaridad creciente cloroformo, cloroformo-acetato de etilo, acetato de etilo, acetato de etilo-metanol, metanol como se muestra en la Tabla 1. Se recolectaron fracciones de 5 mL en tiempos de elución de 15 gotas/min.

Tabla 1. Eluciones en columna.

Relación de eluentes utilizados en columna				
Volumen total (mL)	Volumen solvente (mL)	Solvente	Relación (%)	Fracciones
20	20	CHCl ₃	100	1-4
40	20	CHCl ₃ : COO- CH ₂ -CH ₃	90:10	5-8
60	20	CHCl ₃ : COO- CH ₂ -CH ₃	80:20	9-12
80	20	CHCl ₃ : COO- CH ₂ -CH ₃	70:30	13-16

100	20	CHCl ₃ : COO- CH ₂ -CH ₃	60:40	17-20
120	20	CHCl ₃ : COO- CH ₂ -CH ₃	50:50	21-24
140	20	CHCl ₃ : COO- CH ₂ -CH ₃	40:60	25-28
160	20	CHCl ₃ : COO- CH ₂ -CH ₃	30:70	29-32
180	20	CHCl ₃ : COO- CH ₂ -CH ₃	20:80	33-36
200	20	CHCl ₃ : COO- CH ₂ -CH ₃	10:90	37-40
220	20	COO-CH ₂ -CH ₃	100	41-44
240	20	CH ₃ -COO-CH ₂ - CH ₃ : CH ₃ OH	90:10	45-48
260	20	CH ₃ -COO-CH ₂ - CH ₃ : CH ₃ OH	80:20	49-52
280	20	CH ₃ -COO-CH ₂ - CH ₃ : CH ₃ OH	70:30	53-56
300	20	CH ₃ -COO-CH ₂ - CH ₃ : CH ₃ OH	60:40	57-60
320	20	CH ₃ -COO-CH ₂ - CH ₃ : CH ₃ OH	50:50	61-64
340	20	CH ₃ -COO-CH ₂ - CH ₃ : CH ₃ OH	40:60	65-68
360	20	CH ₃ -COO-CH ₂ - CH ₃ : CH ₃ OH	30: 70	69-72
380	20	CH ₃ -COO-CH ₂ - CH ₃ : CH ₃ OH	20:80	73-76
400	20	CH ₃ -COO-CH ₂ - CH ₃ : CH ₃ OH	10:90	77-80
420	20	CH ₃ OH	100	81-84

6.3.2 Cromatografía en capa fina

Las fracciones se analizaron en cromatografía capa fina (CCF) con indicador de fluorescencia (TLC Silica Gel 60 F254; Merck KGaA) y se formaron fracciones colectivas aquellas con perfil similar determinado por el factor de retención (R_f) (Gómez-Flores et al.2019). EL R_f se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida del soluto}}{\text{Distancia recorrida del solvente}}$$

6.4 Análisis fitoquímico

El perfil fitoquímico la fracción FSC8 se determinó mediante un análisis cualitativo para identificar la presencia de diversos compuestos y grupos funcionales. Este análisis se realizó en una sola repetición en tubos de ensayo, utilizando una solución de la fracción disuelta en metanol a una concentración de 1 mg/ml. Se utilizó disolvente de dilución de metanol como control negativo. Las pruebas se interpretaron visualmente, considerándose positiva aquella que mostraba cambios físicos o de color y negativa aquella que no mostraba cambios según las pruebas descritas a continuación.

Para la detección de xantofilas se utilizó ácido clorhídrico (HCl) concentrado, utilizando 0.2 mL el cual se adicionó a 0.5 mL de la solución de la fracción. Se considera positivo si se observa un cambio de coloración azul verdoso (Sorby 1873). Para la detección de enlaces carbono-carbono insaturados se utilizo la prueba de Baeyer's, esta se realizó añadiendo permanganato de potasio (KMnO_4) 1% en una proporción 1:2 de a la solución CP-F8, posteriormente se agitó y se dejó reposar por un minuto. El cambio de color café o la aparición de un precipitado se considera un resultado positivo (Sánchez-Viesca y Gómez-Gómez 2024). La detección de carbohidratos se realizó con la prueba de Molisch's añadiendo 1 mL del reactivo de Molisch's a 2 mL de la solución metanólica, posteriormente se añadio cuidadosamente 1mL de acido sulfurico por la pared del tubo de ensaye. La presencia positiva de carbohidratos en el extracto se observará al formarse un anillo violeta en la interfase de la solución. Para la detección de compuestos fenolicos se utilizó el ensayo de

cloruro ferrico (FeCl_3) 5%, el cual se añadió de 1-2 gotas del reactivo a 1 mL de la solución CP-F8. Un cambio de color azul, verde, morado o rojo, indica la presencia positiva de phenolic hydroxyl groups. Para la detección de compuestos fenolicos como los flavonoides se utilizó la prueba de Shinoda, en la cual se gregó una pieza pequeña de magnesio (Mg) a 1 mL de la partición, posteriormente se añadieron 10 gotas de acido clorhidrico concentrado. La presencia positiva de flavonoides se observa con un cambio de coloracion de la solución presentandose un color rosa o rojo. Para esteroides y triterpenos se utilizó la prueba de Liebermann–Burchard añadiendo 2 mL del reactivo a 1 mL de la partición. Un cambio de coloración rosa, azul o verde es considerado como una prueba positiva. La presencia de cumarinas se detecto utilizando hidroxido de sodio 10%, el cual se añadio en una proporcion 1:2 a la muestra de la fraccion. El cambio de coloracion amarillo indica una prueba positiva. Para la detección de grupo lactona se utilizó la prueba de Baljet, añadiendo cinco gotas del reactivo de Baljet a 1 mL de la partición. Un cambio de color naranja o naranja rojizo indica una prueba positiva. Finalmente para detección de alcaloides se utilizó la prueba de Dragendorff, añadiendo 1 mL del reactivo a 2 mL de la solucion. La presencia de un precipitado café o cambio de coloracion a amarillo indica una prueba positiva (Shaikh y Patil 2020; Edo et al. 2023; Maheshwaran et al. 2024).

6.5 Análisis *in vitro*

6.5.1 Cultivos celulares

La línea celular de linfoma murino L5178Y-R (ATCC CRL-1722) fue proporcionada la Unidad de Inmunobiología y Acarreadores de Drogas perteneciente al Laboratorio de Inmunología y Virología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Se utilizaron como control sano o normal, células mononucleares de sangre periférica (PBMC) obtenidas de la sangre de un donador sano mediante un gradiente de densidad, utilizando Ficoll-Paque PLUS (GE Healthcare Life Sciences, Pittsburgh, PA, USA), siguiendo las instrucciones del proveedor. Para el mantenimiento de las líneas celulares se utilizó medio Roswell Park Memorial Institute (RPMI 1640) (Life Technologies, Grand Island, NY, USA), suplementado con suero fetal bovino (SFB) (Life Technologies) al 10% y una solución

de antibiótico y antifúngico (Life Technologies) al 1%. Las células permanecieron en incubación en frascos de 25 cm³ a 37 °C, con una atmósfera al 5% de CO₂.

6.5.2 Análisis de los extractos contra la línea de linfoma murino L5178Y-R

El cultivo celular de la línea L5178Y-R se ajustó a una densidad de 1×10^4 células/pozo y las células PBMC se utilizaron a una densidad de 1×10^5 células/pozo en placas de 96 pozos de fondo redondo con medio RPMI 1640. Previo al tratamiento, las células se incubaron durante 24 h, posteriormente se aplicó el tratamiento de cada extracto a las concentraciones de 15.625, 31.25, 62.5, 125 y 250 µg/mL, utilizando sulfato de vincristina a la concentración de 0.05 µg/mL como control positivo y el cultivo celular sin tratamiento como control negativo y se incubó a 37 °C con 5% de CO₂ durante 48 h. Finalizado el tiempo de incubación, se realizó el ensayo de reducción del bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio (MTT) (Merck KGaA), incorporando 15 µL de reactivo a cada pozo durante 4 h. Se decantó el medio y se utilizó dimetilsulfóxido (DMSO; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) para disolver los cristales de formazán. Se realizó la lectura de las placas en un lector de microplacas (MULTISKAN GO; Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) a una longitud de onda de 570 nm (Ramírez-Villalobos et al. 2021). El porcentaje de inhibición del crecimiento celular se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Inhibición (\%)} = \left[\left(\frac{Abs_{570} \text{ tratamiento}}{Abs_{570} \text{ control negativo}} \right) \times 100 \right]$$

A partir del porcentaje de inhibición, se realizó una regresión no lineal Probit para la calcular la concentración inhibitoria 50 (IC₅₀). Se utilizó el valor IC₅₀ de los tratamientos en las líneas tumorales y sanas para determinar el índice de selectividad (IS) mediante la siguiente fórmula (Indrayanto et al. 2021):

$$IS = \frac{IC_{50} \text{ del tratamiento en células sanas}}{IC_{50} \text{ del tratamiento en células tumorales}}$$

6.6 Análisis de actividad hemolítica de extractos

La actividad hemolítica de los extractos se determinó mediante el método descrito por Elizondo-Luévano (2024). Se obtuvieron 20 mL de sangre de un voluntario sano en tubos con anticoagulante EDTA. Se realizaron tres lavados a los glóbulos rojos con buffer de fosfatos salino (PBS) con pH de 7.2 y se prepararon eritrocitos en suspensión al 5% en PBS estéril. Posteriormente en tubos de 2 mL se agregaron por triplicado las concentraciones de los extractos a evaluar (200, 400, 600, 800 y 1000 µg/mL) y la suspensión de eritrocitos. Como control positivo se utilizó agua destilada y como control negativo PBS. Las muestras se incubaron a 37 °C durante 30 min y se centrifugaron a 4 °C durante 5 min a 13,000 rpm. El porcentaje de hemólisis se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Hemólisis (\%)} = \left[\left(\frac{\text{Abs}_{540} \text{ tratamiento}}{\text{Abs}_{540} \text{ control positivo}} \right) \times 100 \right]$$

6.7 Análisis antioxidante

Se realizó un ensayo de actividad antioxidante utilizando el método 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) descrito por Kyriakopoulou (2025). Como control negativo se empleó metanol y como control positivo se utilizó ácido ascórbico a concentraciones de 1.95 a 250 µg/mL. En una microplaca de 96 pozos se colocaron 100 µL de extracto a diferentes concentraciones y 100 µL de DPPH (120 µM) para posteriormente incubar en oscuridad durante 30 min a temperatura ambiente. Se midió la absorbancia a 517 nm en un lector de microplacas y se procedió al cálculo de porcentaje de inhibición del radical DPPH mediante la siguiente fórmula:

$$\text{DPPH inhibición (\%)} = \left[\left(\frac{\text{Abs}_{517} \text{ control (-)} - \text{Abs}_{517} \text{ tratamiento}}{\text{Abs}_{517} \text{ control (-)}} \right) \times 100 \right]$$

6.8 Análisis de la expresión de genes de muerte celular

6.8.1 Extracción de ARN y obtención de ADNc

Se realizó una extracción total de ARN de lisados celulares tratados con la fracción FSC8 se realizó mediante el método Trizol (Life Technologies). El ARN total se utilizó como molde para la síntesis de ADNc utilizando el kit y protocolo ImProm- IITM Reverse Transcription System (Promega). Una vez obtenido el producto de cDNA se almacenó a -20 °C.

6.8.2 Análisis de qPCR

La expresión relativa de los genes PARP1, p53, Bcl-2, BAX, AKT y NRF2 se determinó mediante qPCR utilizando GAPDH como gen endógeno (Tabla 2). Las reacciones se desarrollaron con el kit Sensi FAST SYBER Lo-ROX (Bioline), siguiendo las instrucciones del fabricante. El análisis se realizó con un equipo 7500 Real Time PCR. Las condiciones de qPCR fueron 95 °C durante 5 min, 45 ciclos a 58 °C durante 5 s y 60 °C durante 10 s. La expresión relativa de los genes se calculó utilizando el método $2(-\Delta\Delta Ct)$.

Tabla 2. Secuencias de primers utilizados.

Gen	Abreviación	Secuencia (5'-3')	Referencia
Gliceraldehído-3- fosfato deshidrogenasa	GAPDH	F: GGTATCGTGGAAGGACTCATGAC R: ATGCCAGTGAGCTTCCCGTTTCAGC	
Poli ADP ribosa polimerasa	PARP1	F: AGGCCCTAAAGGCTCAGAAT R: CTAGGTTTCTGTGTCTTGAC	
Proteína tumoral p53	p53	F: TGGCTCTGACTGTACCACCATCC R: CAGCTCTCGGAACATCTCGAAGC	Clark-Pérez 2024
Proteína 2 de la leucemia/linfoma de células B	Bcl-2	F: GAGCGTCAACAGGGAGA R: GCCAGGAGAAATCAAACA	
Proteína X asociada a Bcl-2	BAX	F: ACTAAAGTGCCCGAGCTGA R: ACTCCAGCCACAAAGATGGT	
AKT serina/treonina quinasa 1	AKT	F: CTGTGGCCGATGGACTCAAG R: AACCGTGTCTGCAGAACTCTAG	Héron-Milhavet et al. 2006

Factor nuclear			
eritroide 2		F: ATCCAGACAGACACCAGTGGATC	Rada et al.
relacionado con	NRF2	R: GGCAGTGAAGACTGAACTTTCA	2011
el factor 2			

F: forward; R: reverse.

6.9 Modelo murino

6.9.1 Selección y cuidado animal

Se utilizaron grupos de cuatro ratones BALB/c de 12 a 14 semanas de edad, de aproximadamente 36 g, los cuales fueron proporcionados por el bioterio del Laboratorio de Inmunología y Virología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, México. Se mantuvieron en jaulas ventiladas con acceso de agua y alimento *ad libitum*, con un ciclo luz/oscuridad de 12 h en un ambiente libre de estrés, libre de plagas y libre de patógenos, a una temperatura de 22 °C y humedad relativa de 45%, con ciclos de luz y oscuridad de 12 h. Se siguieron los lineamientos establecidos para el cuidado y bienestar de animales en la investigación de cáncer (Workman et al. 2010). Se utilizó un puntaje clínico para la evaluación del peso corporal, pelaje, postura y actividad social para determinar el criterio de valoración de los animales (Clark-Pérez et al. 2024).

Todos los procedimientos de trabajo con los animales cumplen con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio y fueron sometidos para su revisión por el Comité de Ética de Investigación y Bienestar Animal de la Facultad de Ciencias Biológicas (CEIBA) UANL, con número de registro CEIBA-2022-001 y fecha de aprobación 14 de julio de 2022.

6.9.2 Análisis de toxicidad de la fracción FSC8 en ratones BALB/C

La prueba de dosis máxima tolerada se realizó de acuerdo con las recomendaciones publicadas por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) (2002). Los extractos se suspendieron en 200 µL de un vehículo compuesto de polietilenglicol 300 (PEG-300) (Sigma-Aldrich). El tratamiento se administró vía intraperitoneal a una sola dosis de 100 mg/kg para cada ratón del grupo de tratamiento. Además de mantener un grupo vehículo y un grupo control. Se observó a los ratones para detectar cualquier indicio de toxicidad, incluyendo mortalidad, lagrimeo, anomalías físicas o de comportamiento, pelaje erizado y otros síntomas. El seguimiento se realizó cuidadosamente a intervalos de 30 min durante 4 h y, posteriormente, diariamente, durante 14 d consecutivos (Alemu et al. 2025). Se realizaba eutanasia si existía una pérdida de peso $\geq 20\%$ o un puntaje clínico de > 3 (Figura 1). Para la punción cardíaca, previamente se administró por vía intraperitoneal una dosis de 25 a 40 mg/kg de pentobarbital sódico (Aranda Salud Animal, Querétaro, México) como anestésico, posteriormente se obtuvo una muestra de sangre seguido de la eutanasia animal. Las muestras de sangre se centrifugaron en tubos BD Microtainer (Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) con gel separador de suero y se centrifugaron a 3000 rpm durante 5 min para obtener el suero y realizar pruebas de función hepática. Los hígados de los especímenes se recolectaron y se almacenaron en formalina al 10% para su fijación y posterior análisis histológico (Sayyad et al. 2017; Patel et al. 2025)

Puntaje		0	1	2
Apariencia	Pérdida de peso	Normal	>10% pérdida de peso	15-19.9% pérdida de peso
	Pelaje	Normal	Pelaje áspero	Pelaje áspero y despeinado
	Condición corporal	Normal	Delgado	Perdida de grasa corporal, sin crecimiento, condición corporal < 2
	Postura del cuerpo	Normal	Encorvado	Incapaz de mantenerse en una postura erguida o caminar
	Movimiento	Normal	Reducido/ lento	Letargo o ausencia de respuesta a la estimulación
Actividad	Proximidad con otros	Contacto cercano	Algo separado	Completamente separado

Figura 1. Puntaje clínico para el monitoreo de la salud animal. Tabla obtenida de Clark-Pérez et al. 2024.

Se realizó un análisis histológico con tinción de hematoxilina y eosina de dos muestras representativas de los especímenes utilizados en los grupos control, vehículo y tratamiento para determinar el daño hepático. Los cortes, tinciones y análisis se realizaron en un servicio externo en el Laboratorio de Anatomía Patológica “*SIPAT Lab.*”, ubicado en la ciudad de Monterrey, Nuevo León, México.

6.9.3 Ensayo antitumoral de la fracción FSC8

Se evaluó el efecto antitumoral de la fracción FSC8 utilizando el modelo de linfoma murino descrito por Gómez-Flores et al. (2019). Se utilizaron ratones BALB/c machos de 12 a 14 semanas los cuales se mantuvieron en las condiciones descritas en el apartado 6.8.1 “Selección y cuidado animal”.

Se realizó la activación de la línea celular L5178Y-R con la inoculación de 1×10^6 células suspendidas en 200 μ L de PBS, a un ratón BALB/c macho vía intraperitoneal. Se realizó un proceso de eutanasia al ratón a los 10 d y se extrajo el líquido ascítico para la obtención de las células. Se realizaron lavados con medio RPMI y se preparó una solución de 200 μ L a la concentración de 1×10^6 células/mL en PBS y se realizó la inoculación vía intramuscular en la pata izquierda de los ratones.

A los 7 d de la implantación aquellos ratones con tumor se trataron con la fracción FSC8, además se contó con un grupo control del vehículo utilizado y grupo control sin tratamiento. Se llevó un registro de la supervivencia evaluada diariamente en un periodo de 15 d registrando el día de eutanasia y el volumen tumoral de cada individuo de acuerdo con la fórmula:

$$\text{Volumen tumoral (mm}^3\text{)} = \frac{(\text{largo} \times \text{ancho}^2)}{2}$$

6.10 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Graph Pad Prism 9.0.1 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Los resultados de inhibición se

expresaron como la media $\pm$ SEM de tres repeticiones por tratamiento y tres experimentos independientes. Se realizó la prueba análisis de varianza de una vía (ANOVA) para determinar diferencia significativa. Se realizó la prueba de Tukey con una $p < 0.05$ de significancia entre medias.

7. RESULTADOS

7.1 Rendimientos de extracción inicial

El resumen de los rendimientos se puede observar en la Tabla 3. Para el extracto crudo se obtuvo un rendimiento del 15.22% de extracción a partir de un peso inicial de 1,275 mg de material vegetal. Los resultados de las particiones obtenidas realizando una extracción con solventes de polaridad creciente, catalogaron al metanol como mejor solvente con un rendimiento del 50.23%, seguido de cloroformo con 18% y hexano con 16.58%.

Tabla 3. Rendimientos de extracción Soxhlet del extracto crudo y particiones.

Muestra	Peso de muestra inicial (g)	Solvente de extracción	Peso final (g)	Rendimiento (%)
Extracto crudo	1275*	Metanol	194	15.22
Partición hexánica	154**	Hexano	25.53	16.58
Partición clorofórmica	154**	Cloroformo	27.71	18
Partición metanólica	154**	Metanol	77.36	50.23

*Material vegetal seco; ** Extracto metanólico crudo

7.2 Actividad antioxidante

En la Figura 2 se puede observar que los extractos presentaron una actividad dosis-respuesta para capturar el radical DPPH en rangos de concentración de 1.95 hasta 250

µg/mL. Sin embargo, en comparación con el control positivo el ácido ascórbico fue más efectivo.

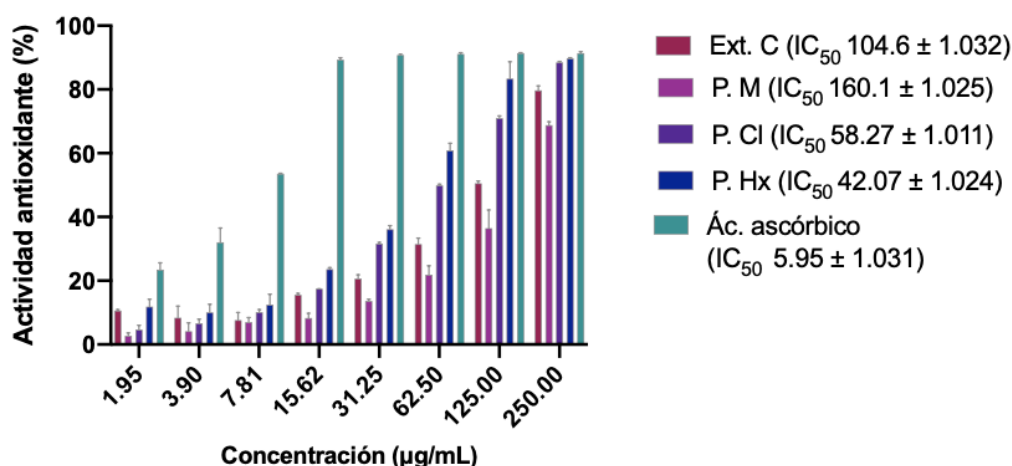


Figura 2. Porcentajes de actividad antioxidante de las particiones obtenidas de un extracto metanólico de *L. marginatus*. Ext. C: Extracto crudo; P. M: Partición metanólica; P. Cl: Partición clorofórmica; P. Hx: Partición hexánica.

El extracto metanólico crudo presentó una actividad inhibitoria IC_{50} de 104 µg/mL. Posterior a la partición se observó una mejora en la actividad de 42.07 y 58.27 µg/mL para las particiones hexánica y clorofórmica respectivamente, y un aumento de 160.1 µg/mL para la partición metanólica y 5.95 µg/mL para el control positivo (Tabla 4).

Tabla 4. Actividad antioxidante del extracto crudo y particiones.

Actividad antioxidante DPPH	Extracto metanólico crudo	Partición metanólica	Partición clorofórmica	Partición hexánica	Ácido ascórbico
IC_{50}^* (µg/mL)	104.6 ± 1.032	160.1 ± 1.025	58.27 ± 1.011	42.07 ± 1.024	5.95 ± 1.031

* IC_{50} obtenida mediante una regresión no lineal Probit. Los datos son la media ± SEM de tres repeticiones por tratamiento y tres experimentos independientes.

7.3 Determinación de la actividad hemolítica

Este ensayo nos permitió observar que el extracto crudo no afectó a los eritrocitos humanos a la concentración máxima probada de 1000 µg/mL en comparación con el control positivo de agua destilada. Esta ausencia de actividad hemolítica también se observó para las particiones clorofórmica y metanólica a la concentración máxima de 1000 µg/mL, sin embargo, la partición hexánica mostró un 59% de hemólisis a la concentración de 200 µg/mL. Se determinó una concentración hemolítica media (IC₅₀) de >1000 µg/mL para el extracto crudo, la partición clorofórmica y partición metanólica respectivamente, y una IC₅₀ <200 µg/mL para la partición hexánica (Tabla 5).

Tabla 5. Actividad hemolítica IC₅₀ del extracto crudo y particiones.

Actividad hemolítica (Eritrocitos 5%)	Extracto metanólico crudo	Partición metanólica	Partición clorofórmica	Partición hexánica
IC ₅₀	>1000 µg/mL	> 1000 µg/mL	> 1000 µg/mL	< 200 µg/mL

7.4 Actividad citotóxica de los extractos y particiones contra la línea celular L5178Y-R y PBMC

El extracto metanólico crudo presentó una IC₅₀ de 9.09 µg/mL contra la línea celular L5178Y-R y un índice de selectividad (IS) de 330.03. El extracto crudo se sometió a un proceso de separación de compuestos por polaridad, obteniendo las fracciones hexánica, clorofórmica y metanólica. Las fracciones mostraron una actividad citotóxica de 6.74, 7.93 y 45.38 µg/mL y un IS de 445.1, 378.31 y 66.1 respectivamente, contra la línea L5178Y-R, mostrando una selectividad contra las células de cáncer (Tabla 6).

Tabla 6. Actividad inhibitoria IC₅₀^{*} del extracto crudo y particiones.

Actividad IC ₅₀ (µg/mL)	Extracto metanólico crudo	Partición metanólica	Partición clorofórmica	Partición hexánica
L5178Y-R	9.09 ± 2.140	45.38 ± 2.549	7.93 ± 2.972	6.74 ± 1.3
IS	330.03	66.1	378.31	445.1
PBMC	> 3000	> 3000	> 3000	> 3000

* IC₅₀ obtenida mediante una regresión no lineal Probit. Los datos son la media ± SEM de tres repeticiones por tratamiento y tres experimentos independientes.

7.5 Fracción supercolectiva FSC8

El fraccionamiento de la partición clorofórmica haciendo uso de columna cromatográfica con sílica gel fase normal, permitió obtener ocho fracciones supercolectivas (FSC). Los rendimientos reportados son correspondientes a la suma total de 20 columnas (Tabla 7).

Tabla 7. Rendimientos de fraccionamiento de la partición clorofórmica.

FSC	Rendimiento (mg)
1	126
2	755
3	155
4	117
5	592
6	764
7	1168
8	1805
Rendimiento total	5482

Las fracciones se visualizaron en cromatografía en capa fina en un eluyente de acetato de etilo y metanol en una relación 1:1 (Figura 3). El R_f se calculó para cada uno de los métodos utilizados en el revelado y visualización de compuestos (Tablas 8-11).

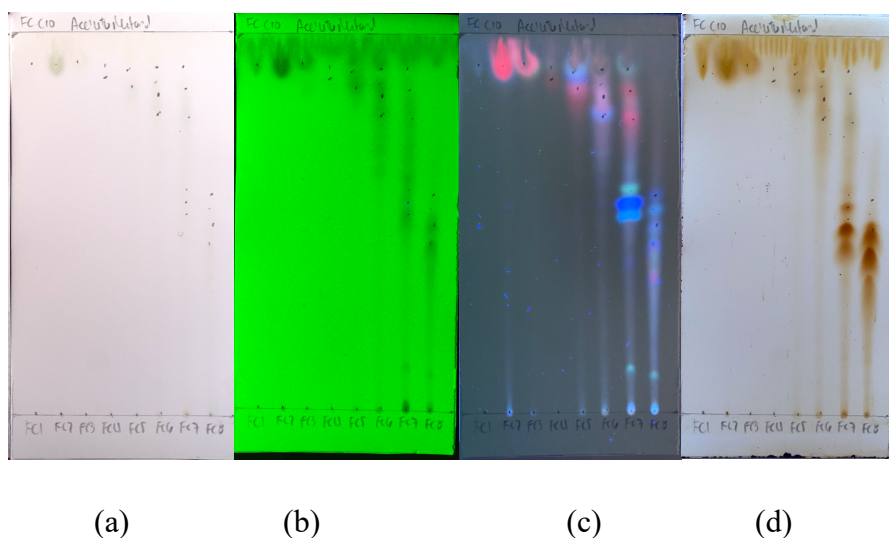


Figura 3. Cromatografía en capa fina. Visualización en luz visible (a); revelado en luz UV a 254 nm (b); revelado en luz UV a 365 nm (c); revelado con yodo (d).

Tabla 8. R_f calculado en visualización con luz visible.

Fracción	R_f
FC1	-
FC2	0.9405
FC3	0.9524
FC4	-
FC5	0.9167
FC6	0.8452, 0.8810
FC7	0.7976, 0.8690
FC8	-

Tabla 9. R_f calculado en revelado con luz UV 254 nm.

Fracción	R_f
FC1	0.9405
FC2	0.9405
FC3	0.9524
FC4	0.9286
FC5	0.8690, 0.9167

FC6	0.7976, 0.8810, 0.9286
FC7	0.5357, 0.5714, 0.6071, 0.9286
FC8	0.4524, 0.5000

Tabla 10. *Rf* calculado en revelado con luz UV 365 nm.

Fracción	<i>Rf</i>
FC1	0.9405
FC2	0.9405
FC3	0.9524
FC4	0.8929, 0.9286
FC5	0.8690, 0.9167
FC6	0.7976, 0.8452, 0.8810, 0.9286
FC7	0.5357, 0.5714, 0.6071, 0.7976, 0.8690, 0.9286
FC8	0.4524, 0.5000, 0.5476, 0.5833

Tabla 11. *Rf* calculado en revelado con yodo.

Fracción	<i>Rf</i>
FC1	0.9405
FC2	0.9405
FC3	0.9405
FC4	-
FC5	0.8810, 0.9167
FC6	0.8571, 0.7976
FC7	0.4524, 0.5119, 0.5714, 0.7976
FC8	0.3571, 0.4643, 0.5119

Como resultados de la actividad biológica de las fracciones colectivas, la fracción FSC1 y FSC7 mostraron una selectividad ≤ 2 obteniendo una IS de 0.23 y 2.12 respectivamente, mientras que las fracciones FSC2, FSC3, FSC4, FSC5, FSC6 y FSC8 presentaron una selectividad >3 , siendo 3.61 y 354.29 la selectividad menor y mayor correspondiente para las FSC5 y FSC8 respectivamente. Las fracciones FSC2, FSC3, FSC4, FSC5, FSC6, FSC7 y FSC8 obtuvieron una IC_{50} de 21.89, 25.56, 24.15, 29.16, 31.14, 21.23 y 11.2 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente contra la línea celular L5178Y-R (Tabla 12).

Tabla 12. Actividad inhibitoria IC_{50} del extracto crudo y particiones.

Muestra	Rendimiento (mg)	IC₅₀ * (µg/mL) L5178YR	IC₅₀ (µg/mL) PBMC	IS
FSC 1	56	66.94 ± 1.050	15.22	0.23
FSC 2	280	21.89 ± 1.063	777.7	35.53
FSC 3	78	25.56 ± 1.038	552.1	21.60
FSC 4	51	24.15 ± 1.040	302.8	12.54
FSC 5	277	29.16 ± 1.074	105.2	3.61
FSC 6	402	31.14 ± 1.068	238.1	7.65
FSC 7	702	21.23 ± 1.116	45.07	2.12
FSC 8	648	11.2 ± 1.093	3968	354.29

* IC₅₀ obtenida mediante una regresión no lineal Probit. Los datos son la media ± SEM de tres repeticiones por tratamiento y tres experimentos independientes.

La fracción FSC8 fue seleccionada como la mejor al presentar la IC₅₀ más baja de 11.20 µg/mL, la selectividad más alta con una IS de 354.29. Ensayos posteriores permitieron observar que la fracción causa lisis de eritrocitos humanos por debajo del 6 % a la concentración máxima de 1000 µg/mL, determinando una IC₅₀ mayor a 1000 µg/mL (Figura 4).

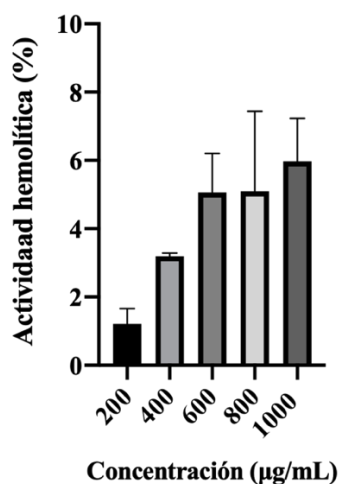


Figura 4. Actividad hemolítica de la fracción FSC8.

Para la fracción FSC8 se observó una actividad antioxidante de manera dosis dependiente, para la cual se calculó una IC_{50} de 62.78 µg/mL (Figura 5). La actividad antioxidante de la FSC8 fue menor en comparación con el control de ácido ascórbico.

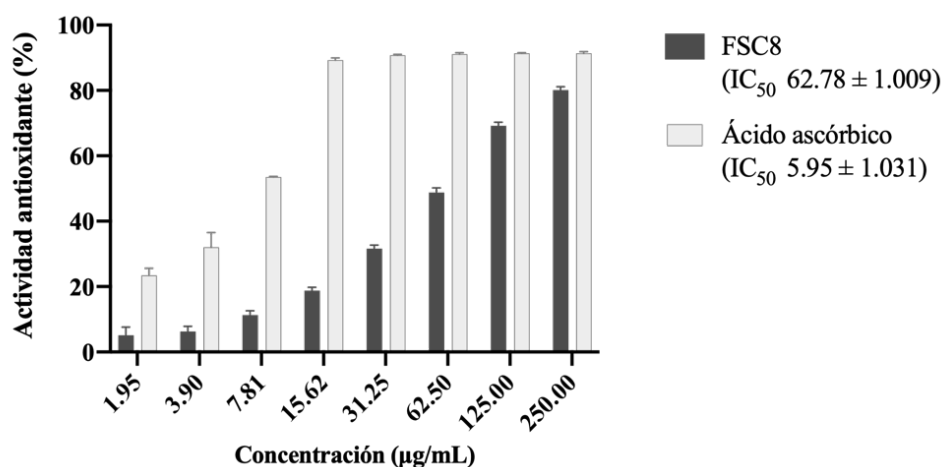


Figura 5. Porcentajes de actividad antioxidante de la fracción FSC8.

7.6 Análisis fitoquímico cualitativo de la fracción FSC8.

El perfil fitoquímico de la FSC8 se determinó en un solo experimento mediante diversas pruebas cualitativas en las que se evaluaron visualmente los cambios físicos, principalmente los cambios de color, tal y como se describe en la tabla 13. Los

resultados se interpretaron como positivos para la presencia de metabolitos con insaturaciones carbono-carbono, compuestos fenólicos, así como esteroides y triterpenos en la fracción FSC8.

Tabla 13. Análisis fitoquímico de FSC8.

Ensayo	Metabolitos/ Grupo funcional	Resultados de la prueba	Interpretación
Ácido clorhídrico concentrado	Xantofilas	No se mostro un cambio de coloracion azul verdoso	Negativo
Baeyer	Enlaces carbono-carbono insaturados	Se observó la presencia de un precipitado	Positivo
Molisch	Carbohidratos	No se formó un anillo violeta en la interfase	Negativo
Shinoda	Flavonoides	No se observó cambio de coloracion rosa o rojo	Negativo
Dragendorff	Alcaloides	No hubo cambio de color amarillo ni presencia de precipitado color café	Negativo
Cloruro férrico (FeCl ₃)	Fenoles	Se observó un cambio de coloración verde	Positivo
Liebermann-Burchard	Esteroides y triterpenos	Se observó un cambio de coloración verde	Positivo
Hidróxido de sodio al 10%	Cumarinas	No hubo cambio de coloración amarillo	Negativo
Baljet	Lactonas	No se observó un cambio de coloración naranja o naranja rojizo	Negativo

7.7 Análisis de la expresión de genes de muerte celular en la línea celular L5178Y-R inducido por FSC8

Se calculó la expresión relativa de los genes p53, Bcl-2, BAX, PARP1, AKT y NRF2, en respuesta al tratamiento de FSC8 comparado con un control de células no tratadas. Los resultados de la influencia de la fracción FSC8 se grafican en la figura 6, en donde se observa una regulación a la alza en la expresión de p53, Bcl-2, PARP1, AKT y NRF2 con un fold de 4.80, 2.02, 1.48, 11.16 y 5.54 veces respectivamente, más que el valor basal del control y una regulación a la baja de BAX con un fold de 0.04 mostrando una fuerte represión.

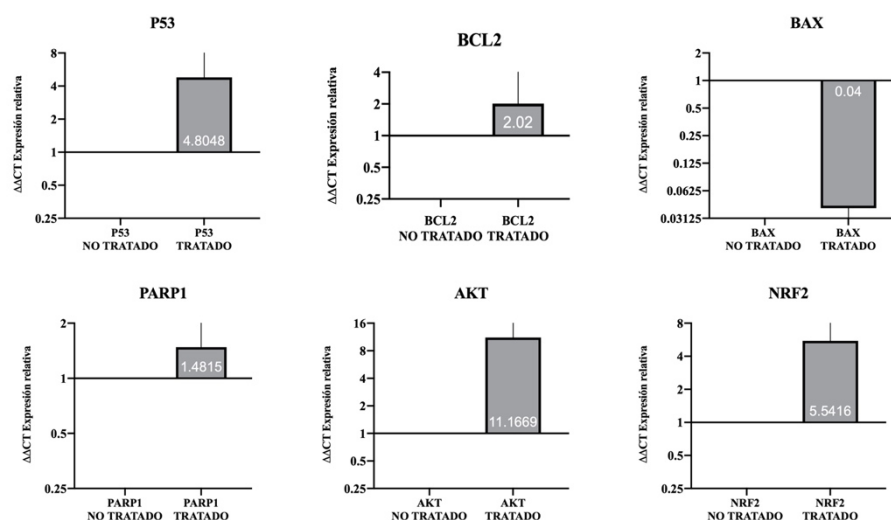


Figura 6. Expresión relativa de genes inducidos por el tratamiento de FSC8 en la línea celular L5178Y-R. (a) gen p53; (b) gen Bcl-2; (c) gen BAX; (d) gen PARP1; (e) gen AKT; (f) gen NRF2. Los resultados en las gráfica se muestra en escala Log₂.

7.8 Ensayo *in vivo* de toxicidad sistémica de la fracción FSC8 en un modelo murino

El monitoreo diario de los ratones durante el ensayo permitió obtener el promedio de consumo de alimento y agua de los ratones por grupos. Se observó que el consumo de alimento por ratón fue entre 5.83 y 6.86 g/día, mientras que, el consumo de agua se estableció entre 8.93 y 9.22 mL/día (Figura 7). De igual manera se observó que el peso de los ratones fue incrementando de manera exponencial durante todo el proceso del experimento sin observar pérdidas de peso en los ratones tratados (Figura 8).

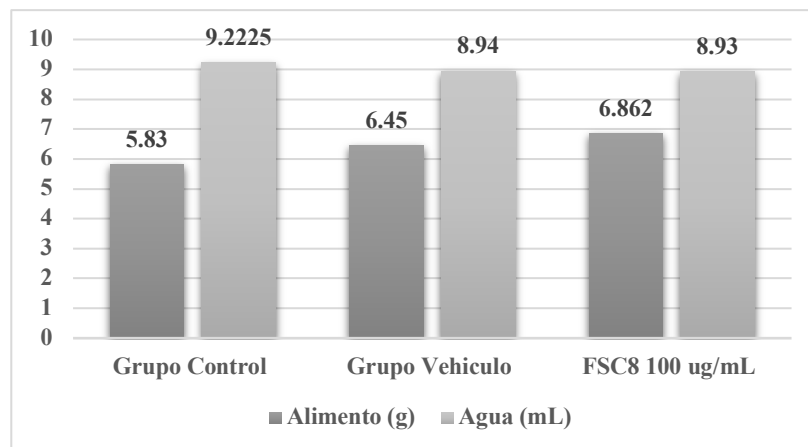


Figura 7. Promedios de consumo de alimento y agua de ratón por día.

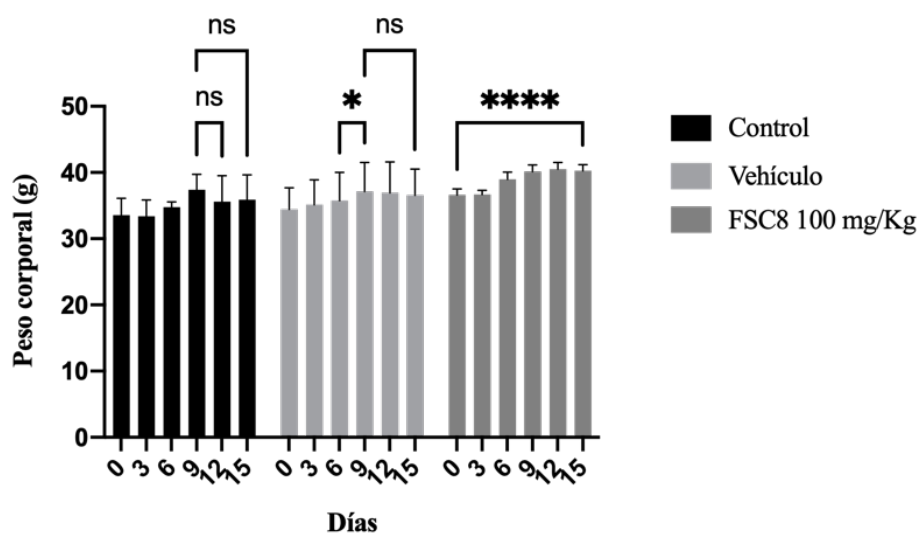


Figura 8. Peso corporal de ratones tratados con FSC8, grupo control vehículo y control sin tratamiento durante 14 d. ns: no significativo, * $p < 0.05$ and **** $p < 0.01$.

Los valores del perfil bioquímico obtenidos del análisis del suero de ratón fueron comparados con los valores reportados por diversos autores para ratones BALB/c mayores a 14 semanas (tabla 14). El grupo control sin tratamiento obtuvo valores fuera de referencia en los niveles de la enzima ALT, urea, ácido úrico y triglicéridos, mientras que el grupo control vehículo presentó valores fuera para la enzima ALT y urea, sin embargo, el grupo tratado con la fracción FSC8 solo presentó una actividad ALP fuera del valor de referencia, la cual pudiera estar relacionada con la baja de

triglicéridos y el aumento de glucosa con respecto a los valores obtenidos del grupo control.

Tabla 14. Perfil bioquímico sanguíneo de ratones BALB/c.

Parámetros	Control	Vehículo	FSC8 100 mg/kg	Valor de referencia*
Glucosa (mg/dL)	96 (0.41)	164 (0.70)	186 (0.79)	21.4 - 232.6
Proteínas Totales (g/dL)	5.2 (0.89)	5.1 (0.87)	4.9 (0.84)	4.60 - 5.80
Albumina (g/dL)	2.9 (0.69)	2.7 (0.64)	2.8 (0.66)	2.70 – 4.20
Fosfatasa Alcalina (ALP) (U/L)	159 (0.77)	194 (0.94)	246 (1.20)	46.0 – 204.8
Aspartato Aminotransferasa (AST o TGO) (U/L)	427 (0.65)	305 (0.46)	265 (0.40)	39.30 – 655.80
Alanina Aminotransferasa (ALT o TGP) (U/L)	316 (1.57)	232 (1.15)	176 (0.87)	18.20 – 200.20

Los valores entre paréntesis representan el aumento/disminución con respecto al límite superior normal. *Los valores de referencia se obtuvieron de Patel et al, 2025.

Se realizó un análisis histológico de dos muestras representativas de hígado de ratón para los grupos control, vehículo y tratamiento. El resultado de la tinción con hematoxilina y eosina nos permitió descartar algún tipo de deficiencia en la función hepática al no observar signos de daño hepatocelular, necrosis o fibrosis (Figura 9).

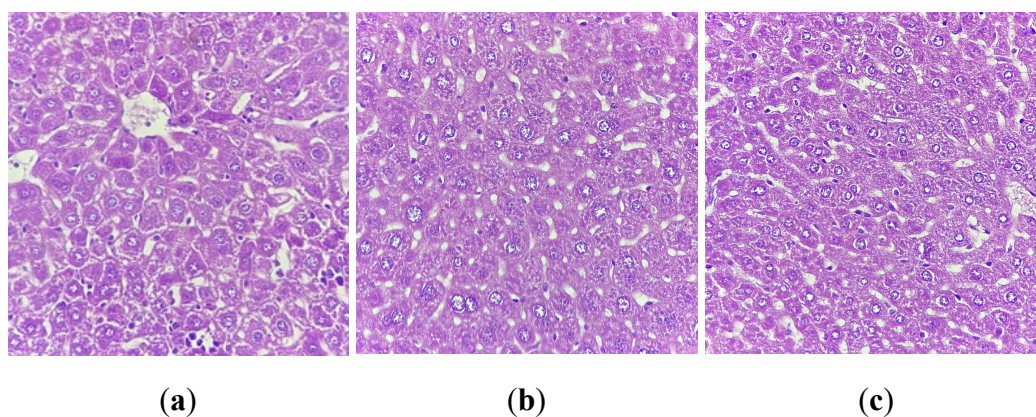


Figura 9. Análisis histológico de hígado de ratones BALB/c. Tinción hematoxilina y eosina. Imagen observada a 40 x. Imagen (a): corte histológico correspondiente al grupo control; imagen (b): correspondientes al grupo vehículo; imagen (c): correspondientes al grupo tratado con 100 mg/kg de la fracción FSC8.

7.9 Ensayo antitumoral de FSC8 en modelo murino

Se administraron por vía intraperitoneal, tres dosis de 33 mg/kg correspondientes a la fracción FSC8 una vez que se desarrolló el tumor a los 7 días posteriores de la implantación de las células de linfoma. Con un rango de 10 a 13 días se observó un crecimiento exponencial en el volumen tumoral, el cual fue monitoreado en los tres grupos hasta alcanzar los 20 mm (Figura 10). La probabilidad de supervivencia fue mayor en el grupo tratamiento con respecto a los controles (Figura 11), el cual mostró una diferencia altamente significativa entre los tres grupos (*Mantel Cox-Prueba de rangos logarítmicos* $p = 0.003$ y *Gehan-Breslow-Wilcoxon* $p = <0.001$) y una diferencia significativa entre el control negativo y tratamiento (*Mantel Cox-Prueba de rangos logarítmicos* $p = 0.084$ y *Gehan-Breslow-Wilcoxon* $p = 0.0116$).

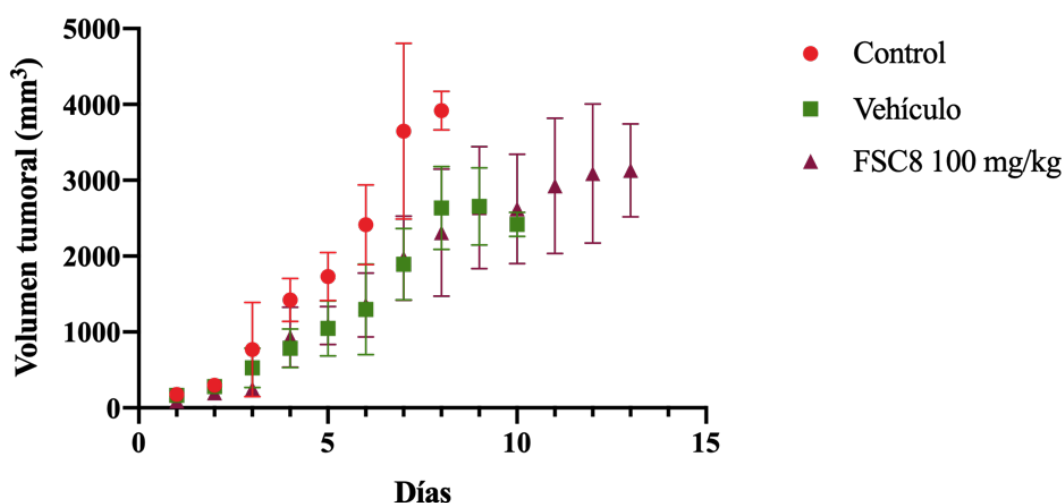


Figura 10. Volumen tumoral de ratones (mm³).

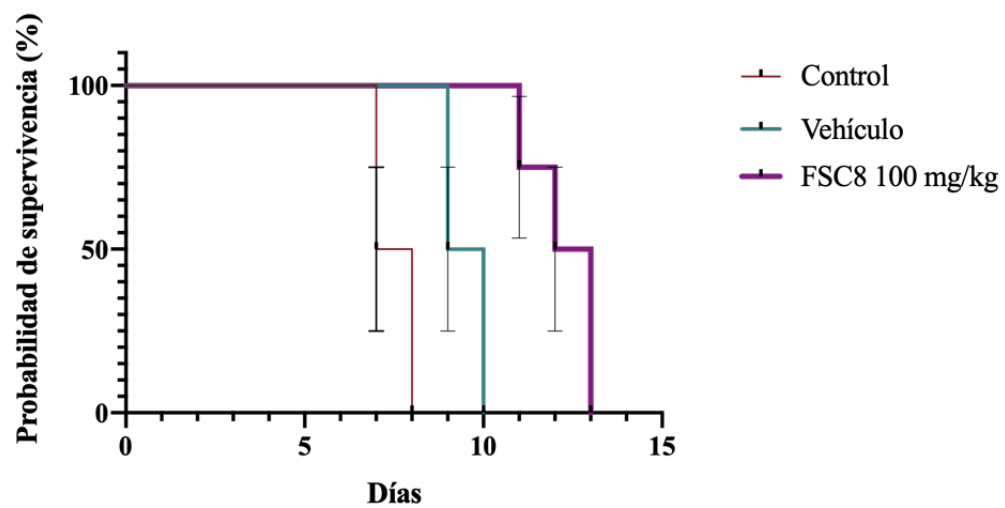


Figura 11. Probabilidad de supervivencia en el tratamiento con FSC8.

8. DISCUSIÓN

Tradicionalmente, en la medicina botánica las cactáceas se han utilizado para el tratamiento de diversos trastornos, destacando sus propiedades antiinflamatorias y anticancerígenas, las cuales han sido respaldadas por investigaciones científicas recientes (Orozco-Barocio et al. 2024). En este estudio se evaluó el potencial efecto citotóxico de la cactácea *L. marginatus* contra la línea tumoral L5178Y-R, así como la selectividad y seguridad del extracto crudo y de las particiones obtenidas con solventes de baja, media y alta polaridad.

Inicialmente, el extracto crudo presentó una IC_{50} de 9.09 $\mu\text{g/mL}$, un índice de selectividad (IS) de 330.03 y no mostró actividad hemolítica a una concentración de 1000 $\mu\text{g/mL}$. Estos resultados de citotoxicidad concuerdan con estudios previos. Sin embargo, no se había reportado previamente su selectividad en células mononucleares de sangre periférica ni su actividad hemolítica sobre eritrocitos humanos (Hernández-Martínez et al.; Quintanilla-Licea et al. 2016).

Las particiones hexánica, clorofórmica y metanólica mostraron valores de IC_{50} de 6.74, 7.93 y 45.38 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. La selectividad de los extractos frente a células cancerígenas es un aspecto fundamental en el desarrollo de alternativas terapéuticas oncológicas, ya que se busca minimizar la toxicidad sobre células sanas a concentraciones terapéuticas equivalentes (Calderón-Montaña et al. 2021). En este contexto, las particiones hexánica, clorofórmica y metanólica presentaron valores de IS de 445.1, 378.31 y 66.1, respectivamente, considerándose altamente selectivas contra linfoma, dado que un valor de IS mayor a 2 es considerado aceptable para preservar la seguridad de las células sanas (Indrayanto et al. 2021).

Adicionalmente, el ensayo de hemólisis permitió complementar la evaluación de la toxicidad *in vitro* de los extractos (Adil et al. 2022; Elizondo-Luévano et al. 2024). Se observó que la partición hexánica causó hemólisis de eritrocitos a una concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$, en comparación con las particiones clorofórmica y metanólicas, las cuales no presentaron actividad hemolítica, calculándose una $IC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ en ambos casos. Se ha descrito que algunos extractos vegetales obtenidos con *n*-hexano pueden presentar actividad hemolítica debido a la presencia de compuestos no polares, como ácidos grasos (Harris et al. 2025). Asimismo, se ha reportado que el ácido

oleanólico, como aglicona de las saponinas, confiere una actividad hemolítica significativa en comparación con otros ácidos grasos (Hussein y El-Anssary 2019).

Este efecto hemolítico es proporcional al número de átomos de carbono presentes en los ácidos grasos insaturados, observándose un incremento de la actividad en compuestos que contienen más de 12 átomos de carbono en su estructura (Løvstad 1986). Lo anterior podría estar relacionado con la presencia de ácido palmítico, un ácido graso de 16 átomos de carbono, previamente aislado en una fracción hexánica de *L. marginatus* (Gómez-Flores et al. 2019). Estos compuestos interactúan principalmente con la membrana celular mediante la inserción inicial del ácido graso en la bicapa lipídica del eritrocito, comprometiendo su integridad y facilitando la entrada de más ácidos grasos en una segunda etapa de penetración (Bodansky 1931; Harris et al. 2025).

De acuerdo con Canga et al. (2022), aquellos extractos que presenten una IC₅₀ menor a 30 µg/mL pueden considerarse candidatos para continuar con estudios antitumorales. Dado que la fracción clorofórmica mostró la mejor combinación de selectividad, seguridad y actividad biológica, se procedió a su fraccionamiento mediante cromatografía en columna, obteniéndose ocho fracciones con valores de IC₅₀ que oscilaron entre 11.20 y 66.94 µg/mL (Tabla 11). No obstante, algunas de estas fracciones presentaron bajos rendimientos o baja selectividad, por lo que se seleccionó la fracción FSC8, la cual mostró el mejor rendimiento, una actividad citotóxica con IC₅₀ de 11.20 µg/mL, un IS de 354.29, una IC₅₀ antioxidante de 62.78 µg/mL y ausencia de hemólisis a 1000 µg/mL.

El análisis fitoquímico cualitativo de FSC8 permitió identificar la presencia de metabolitos con enlaces carbono-carbono insaturados (C=C), fenoles, triterpenos y esteroides (Tabla 12). Los fenoles simples contienen una unidad de fenol sustituido; sin embargo, los ácidos hidroxycinámicos, una clase de ácidos fenólicos, pueden presentar enlaces C=C en su estructura (Al Mamari 2022). Este tipo de compuestos destaca por su capacidad antioxidante, atribuida a su habilidad para donar átomos de hidrógeno y neutralizar radicales libres, lo cual es clave en sus propiedades antiinflamatorias y anticancerígenas (Santos Sánchez et al. 2019).

Por otra parte, los esteroides de origen vegetal presentan una estructura conformada por cuatro anillos de cicloalcano y diversos grupos funcionales, como grupos hidroxilo

y un sustituyente en C17, características que les confieren efectos antiinflamatorios y antitumorales (Mendoza Lara et al. 2025). En estudios previos sobre *L. marginatus* se reportó la presencia de los fitoesteroles lofenol y β -sitosterol en extractos hexánicos (Gómez-Flores et al., 2019); sin embargo, hasta el momento no existen reportes sobre extractos de polaridad intermedia. En otras especies del género *Lophocereus*, como *L. schottii*, se ha documentado la presencia de compuestos polifenólicos (α -tocotrienol), ácidos fenólicos (ácido cumaril-málico) y esteroides (escotenol y poriferasta-trienol) en fracciones polares (Orozco-Barocio et al. 2022).

Para compuestos como ácidos fenólicos, tocotrienoles y fitoesteroles se ha reportado actividad anticancerígena frente a diversos tipos de cáncer, incluyendo colon, hígado, próstata, pulmón, mama, páncreas y leucemia, principalmente mediante la inducción de apoptosis. Por ello, se sugiere que esta clase de metabolitos podría estar presente en la fracción FSC8 y ser responsable de su actividad citotóxica (Woyengo & Ramprasath 2009; Stevens-Barrón et al. 2017; Abotaleb et al. 2020; Wang et al. 2023).

Dentro de la expresión de genes, la función reguladora de p53 se encuentra bien caracterizada por su capacidad para actuar en la detención del ciclo celular y como promotor de mecanismos de reparación o muerte celular en presencia de estrés genotóxico (Safieh et al. 2023). Su activación puede reflejar una respuesta inicial a daño inducido por estrés oxidativo el cual puede ser modulado por metabolitos secundarios (Li et al. 2021). Sin embargo, a pesar de este aumento de p53 (4.80 fold), el análisis de la vía apoptótica revela una regulación atípica, reduciendo la expresión de BAX (0.04 fold) mientras que Bcl-2 se mostró sobre expresado (2 fold) (Figura 6). Este desequilibrio entre genes proapoptóticos y antiapoptóticos de la familia Bcl-2 puede favorecer la inhibición de la apoptosis mitocondrial, ya que Bcl-2 interfiere directamente con la función proapoptótica de BAX (Kaloni et al. 2023). Esta disminución de BAX se ha asociado con resistencia de muerte celular programada e incluso puede contribuir a la supervivencia celular en respuesta a señales de estrés que activen rutas apoptóticas (Li et al. 2021).

Una expresión elevada de NRF2 (5.54) puede observarse comúnmente en células expuestas a estrés oxidativo, que a la par se encuentra asociado con la transcripción de genes citoprotectores implicados en la detoxificación y mantenimiento de la homeóstasis redox (Panahizadeh et al. 2024), a demás, se ha vinculado con un

incremento en la expresión de genes antiapoptóticos como Bcl-2, favoreciendo la supervivencia frente a un estrés oxidativo (Jalali et al. 2021). Por otra parte, el incremento de la expresión de AKT también se encuentra relacionado con Bcl-2. La señalización de AKT (vía AKT/PI3K) puede aumentar la expresión de ARNm de Bcl-2, lo cual le permite a la célula mejorar la capacidad de resistencia a la apoptosis (Flusberg et al. 2017). La expresión de Bcl-2 también puede estimular directamente la activación de AKT, creando un bucle de retroalimentación para la supervivencia, esta sobreexpresión de Bcl-2 se asocia con una mayor activación de AKT, lo que da lugar a la resistencia a la quimioterapia (Pilling & Hwang 2019; Dai et al. 2021).

Finalmente, la expresión de PARP (1.48 fold) puede ser una respuesta al reconocimiento de lesiones de ADN inducidas por estrés oxidativo (Li et al. 2024). Se ha informado que PARP-1 desempeña un doble papel en la modulación de la muerte celular. En condiciones de daño moderado del ADN, PARP-1 tiene una función protectora, ya que reconoce y se une a lesiones de ADN inducidas por estrés oxidativo, coordinando el reclutamiento de nucleasas y factores reparadores para mantener la integridad genómica tras estrés moderado. Por otro lado, tras un daño excesivo del ADN, este desempeña un papel crucial en la muerte celular debido a su sobreactivación, lo que conduce al agotamiento del ATP (Wang et al. 2019; Huang et al. 2024).

En los ensayos *in vivo*, la ausencia de pérdida de peso corporal es indicativa de que no existe un estrés externo significativo que afecte al animal o a su ingesta de alimento (Jeong et al. 2013). En este estudio no se observaron alteraciones en el peso corporal, registrándose un incremento progresivo durante los 15 días posteriores a la administración de FSC8 (Figura 3). El monitoreo de la función hepática se realizó mediante la determinación de las enzimas alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) y fosfatasa alcalina (ALP), las cuales son indicadores comunes de alteraciones anatómicas o bioquímicas hepáticas (Silva-Santana et al., 2020).

Diversos autores definen el daño hepatocelular inducido por fármacos como un aumento combinado de ALT, AST y ALP, observándose principalmente incrementos de ALT y AST mayores a cinco veces el límite superior normal, mientras que un aumento de ALP mayor a dos veces se asocia con lesión colestásica (Tajiri 2008; NIH

2025). En este estudio no se observaron alteraciones significativas en la función hepática, a pesar de un aumento de 1.20 veces en ALP y de 1.57 y 1.15 veces en ALT en los grupos control y control vehículo, respectivamente, valores que se encuentran por debajo de los umbrales establecidos para daño hepatocelular o colestásico.

Cabe señalar que la medición de estas enzimas presenta ciertas limitaciones, ya que sus niveles pueden alterarse por daños en otros tejidos, como hueso o músculo, sin estar necesariamente asociados a lesión hepática inducida por fármacos (Roy et al. 2024). En este sentido, el análisis histológico hepático complementó los resultados bioquímicos, ya que no se observaron signos de necrosis, inflamación ni fibrosis en ninguno de los grupos evaluados (NIH 2025).

Finalmente, la administración de tres dosis de la fracción FSC8 permitió una supervivencia de 13 días en el modelo antitumoral. Este efecto ha sido observado previamente con extractos crudos etanólicos y acuosos de *L. schottii* y *P. marginatus*, respectivamente, los cuales reportaron supervivencias de 20 y 28 días (Orozco-Barocio et al. 2013; Gómez-Flores et al. 2019). La diferencia en los tiempos de supervivencia podría atribuirse al número de dosis administradas, ya que otros estudios reportan entre 15 y 28 dosis durante el tratamiento. No obstante, la fracción FSC8 presentó una supervivencia cercana a los 15 días obtenidos con la administración de vincristina (0.05 mg/kg) en el mismo modelo tumoral L5178Y-R en ratones BALB/c machos de 10 semanas (Almaguer et al. 2023).

En conjunto, estos resultados permiten catalogar a la fracción FSC8 como un posible candidato antitumoral, al no inducir hemólisis, presentar alta selectividad contra células de linfoma murino, mostrar actividad anticancerígena y antioxidante *in vitro*, y no generar daño hepático en un modelo *in vivo*.

9. CONCLUSIONES

- El extracto crudo de *L. marginatus* y las particiones clorofórmica y metanólica mostraron una actividad anticancerígena y antioxidante.
- El extracto crudo de *L. marginatus*, y las particiones clorofórmica y metanólica se pueden considerar seguras como tratamiento al no presentar actividad biológica contra células sanas y eritrocitos a concentraciones de 3000 µg/mL y 1000 µg/mL respectivamente.
- La fracción FSC8 es un candidato como tratamiento al presentar actividad anticancerígena, actividad antioxidante, selectividad contra la línea L5178Y-R y al no inducir hemólisis en eritrocitos humanos.
- La fracción FSC8 presenta metabolitos con enlaces carbono-carbono insaturados (C=C), compuestos fenólicos, triterpenos y esteroides.
- La fracción FC8 induce reprime la expresión de BAX y la sobre expresión de p53, PARP1, Bcl-2, NRF2 y AKT, indicando un estado adaptativo que podría conferir una reparación de daño y resistencia al tratamiento a través de mecanismos antioxidantes y de bloqueo de apoptosis intrínseca.
- La fracción FSC8 prolonga la supervivencia en ratones BALB/c, sin inducir daño hepático a una dosis de 100 mg/kg.

10. PERSPECTIVAS

- Mayor purificación e identificación de los metabolitos presentes en la fracción FSC8.
- Mejora y ampliación de las técnicas moleculares para detectar la vía de acción.
- Funcionalización y aplicación de los productos obtenidos para la mejora de la actividad biológica y la administración.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Abotaleb M, Liskova A, Kubatka P & Büsselberg D. 2020. Therapeutic potential of plant phenolic acids in the treatment of cancer. *Biomolecules*, 10, 221. <https://doi.org/10.3390/biom10020221>
2. Adil H, Ayaz AK, Muhammad A, Ghazala YZ, Zafar I, Qarib U, Javid I, Muhammad S & Tariq A. 2022. In-vitro and in-vivo assessment of toxic effects of *Parthenium hysterophorus* leaves extract. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 67, 5484-5489. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072022000205484>
3. Al Mamari HH. 2022. Phenolic compounds: Classification, chemistry, and updated techniques of analysis and synthesis. IntechOpen Limited: London, UK. <https://doi.org/10.5772/intechopen.98958>
4. Alemu MA, Moges TA, Zeleke TK, Abebe RB & Zewdu WS. 2025. Antimalarial activity of root extract of *Tephrosia villosa* L. Pers. (Fabaceae) on *Plasmodium berghei*-infected mice. *Scientific Reports*, 15, 27162. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-11137-0>
5. Almaguer G, Almaguer-Vargas G, Molina EM, Becerril MA, Montejano B, Madrigal EO, Hernández A, Figueroa AH, Montejano E & Montejano JR. 2023. Antitumor effect of epigallocatechin gallate and vincristine in mice with L5178Y lymphomae. *Plants*, 12(21), 3757. <https://doi.org/10.3390/plants12213757>
6. Anand U, Jacobo-Herrera N, Altemimi A & Lakhssassi N. 2019. A comprehensive review on medicinal plants as antimicrobial therapeutics: Potential avenues of biocompatible drug discovery. *Metabolites*, 9(11), 258. <https://doi.org/10.3390/metabo9110258>.
7. Arias S & Terrazas T. 2009. Taxonomic revision of *Pachycereus* (Cactaceae). *systematic botany*, 34(1), 68–83.
8. Arias S, Terrazas T & Cameron K. 2003. Phylogenetic analysis of *Pachycereus* (Cactaceae, Pachycereeae) based on chloroplast and nuclear DNA sequences. *Systematic Botany*, 28(3), 547–557.

9. Bodansky M. 1931. Relation of Hemolysis to the primary penetration of fatty acids through the red cell membrane. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 28, 632-634. <https://doi.org/10.3181/00379727-28-5458>
10. Brau-Figueroa H, Palafox-Parrilla AE & Mohar-Betancourt A. 2020. The national cancer registry in Mexico, a reality. *Gaceta Mexicana de Oncología*, 19(2), 1–5. <https://doi.org/10.24875/j.gamo.20000030>
11. Brglez Mojzer E, Knez Hrnčič M, Škerget M, Knez Ž & Bren U. 2016. Polyphenols: Extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules*, 21(7), 901. <https://doi.org/10.3390/molecules21070901>
12. Calderón-Montaña JM, Martínez-Sánchez SM, Jiménez-González V, Burgos-Morón E, Guillén-Mancina E, Jiménez-Alonso JJ, Díaz-Ortega P, García F, Aparicio A & López-Lázaro M. 2021. Screening for selective anticancer activity of 65 extracts of plants collected in western Andalusia, Spain. *Plants*, 10, 2193. <https://doi.org/10.3390/plants10102193>
13. Caldwell JC. 2019. Alterations in cell proliferation, cell death, or nutrient supply. In: Baan RA, Stewart BW, Straif K, editors. *Tumour site concordance and mechanisms of carcinogenesis*. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer. https://www.ncbi-nlm-nih-gov.translate.google/books/NBK570322/?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=es&_x_tr_hl=es&_x_tr_pto=tc
14. Canga I, Vita P, Oliveira AI, Castro MÁ & Pinho C. 2022. In vitro cytotoxic activity of african plants: A review. *Molecules*, 27, 4989. <https://doi.org/10.3390/molecules27154989>
15. Cassels, B. K. 2019. Alkaloids of the cactaceae. The classics. *Natural Product Communications*, 14(1), 85–90. <https://doi.org/10.1177/1934578X1901400123>
16. Chimento A, De Luca A, D'Amico M, De Amicis F & Pezzi V. 2023. The involvement of natural polyphenols in molecular mechanisms inducing

- apoptosis in tumor cells: A promising adjuvant in cancer therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2), 1680. <https://doi.org/10.3390/ijms24021680>
17. Clark-Pérez DL, Romo-Sáenz CI, Ramírez-Villalobos JM, Tamez-Guerra P, Caballero-Hernández D, Delgado-Miranda AL, García A, Elizondo-Luevano JH, Rodríguez-Padilla C & Gómez-Flores R. 2024. In vitro and in vivo antitumor activity of *Lophocereus marginatus* (DC.) S. Arias & Terrazas endophytic *Aspergillus versicolor* and *Metarhizium anisopliae* extracts against the murine lymphoma L5178Y-R. *Microorganisms*, 12, 2310. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12112310>
 18. Clark-Pérez, D.L. 2024. Evaluación del efecto antitumoral in vitro e in vivo de extractos de hongos endófitos asociados a *Lophocereus marginatus* en el modelo de linfoma murino L5178Y-R. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León. <http://eprints.uanl.mx/27190/>
 19. Dai Y, Jin S, Li X, Wang D. 2020. Correction: The involvement of Bcl-2 family proteins in AKT-regulated cell survival in cisplatin resistant epithelial ovarian cancer. *Oncotarget*, 11, 488-489. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.27376>
 20. Das G, Lim KJ, Tantengco OAG, Carag HM, Gonçalves S, Romano A, Das SK, Coy-Barrera E, Shin HS, Gutiérrez-Grijalva EP, Heredia JB & Patra JK. 2021. Cactus: Chemical, nutraceutical composition and potential biopharmacological properties. *Phytotherapy Research*, 35(3), 1248–1283. <https://doi.org/10.1002/ptr.6889>
 21. Dehghan S, Kheshtchin N, Hassannezhad S & Soleimani M. 2023. Cell death classification: A new insight based on molecular mechanisms. *Experimental Cell Research*, 433(2), 113860. <http://doi.org/10.1016/j.yexcr.2023.113860>
 22. Djerassi C, Smith CR, Marfey SP, MacDonald RN, Lemin AJ, Figdor SK & Estrada H. 1954. Aislamiento de la pilocereina y de la anhalonidina de cuatro especies de cactus. *Boletín Del Instituto de Química de La Universidad Nacional Autónoma de México*, 6, 31–18.

23. Dutta S, Mahalanobish S, Saha S, Ghosh S & Sil PC. 2019. Natural products: An upcoming therapeutic approach to cancer. *Food and Chemical Toxicology*, 128(2), 240–255. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.04.012>
24. Edo GI, Ugbune U, Onoharigho FO, Ezekiel GO, Ugbuwe E, Agbo JJ. 2023. Investigation of the Metal Complexes and Bioactive Compound Formed by Coordination of Bioactive Phytochemical from Ginger (*Zingiber Officinale*) Extracts to Metal Ions. *Food Chemistry Advances*, 3, 100337. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100337>
25. Elizondo-Luevano JH, Quintanilla-Licea R, Castillo-Hernández SL, Sánchez-García E, Bautista-Villarreal M, González-Meza GM, Gloria-Garza MA, Rodríguez-Luis OE, Kluz MI & Kačániová M. 2024. In vitro evaluation of anti-hemolytic and cytotoxic effects of traditional mexican medicinal plant extracts on human erythrocytes and cell cultures. *Life*, 14(9), 1176. <https://doi.org/10.3390/life14091176>
26. Flusberg DA, Numaguchi Y, Ingber DE. 2017. Cooperative Control of Akt Phosphorylation, bcl-2 Expression, and Apoptosis by Cytoskeletal Microfilaments and Microtubules in Capillary Endothelial Cells. *Molecular Biology of the Cell*, 12. <https://doi.org/10.1091/mbc.12.10.3087>
27. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson S et al. 2018. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death & Differentiation*, 25, 486–541. <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0012-4>
28. Gómez-Flores R, Quintanilla-Licea R, Hernández-Martínez HC, Samaniego-Escamilla M, Tamez-Guerra P, Monreal-Cuevas E, Tamez-Guerra R & Rodriguez-Padilla C. 2019. Survival of lymphoma-bearing mice by *Pachycereus marginatus* cactus extracts and elucidation of bioactive compounds. *Natural Product Communications*, 14(5). <https://doi.org/10.1177/1934578X19845814>
29. Haris M, Rehman S & Rauf A. 2025. Ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacological activities and toxicity study of *Bambusa bambos* (L.) voss: a

comprehensive overview. Discover Plants, 48. <https://doi.org/10.1007/s44372-025-00124-4>

30. Hernández-Martínez HC, Gómez-Flores R, Tamez-Guerra P, Quintanilla-Licea R, Samaniego-Escamilla MÁ, Monreal-Cuevas E, Tamez-Guerra R & Rodriguez-Padilla C. 2016. Antitumor activity of *Pachycereus marginatus* (DC.) Britton Rose extracts against murine lymphoma L5178Y-R and skin melanoma B16F10 cells. Journal of Medicinal Plants Research, 10(36), 635–639. <https://doi.org/10.5897/jmpr2016.6156>
31. Héron-Milhavet L, Franckhauser C, Rana V, Berthenet C, Fisher D, Hemmings BA, Fernandez A, Lamb NJ. 2006. Only Akt1 is required for proliferation, while Akt2 promotes cell cycle exit through p21 binding. Molecular and Cellular Biology, 26, 8267-8280. <https://doi.org/10.1128/MCB.00201-06>
32. Huang M, Lu JJ & Ding J. 2021. Natural products in cancer therapy: Past, present and future. Natural Products and Bioprospecting, 11(1), 5–13. <https://doi.org/10.1007/s13659-020-00293-7>
33. Huang YL, Huang DY, Klochkov V, Chan CM, Chen YS, Lin WW. 2024. NLRX1 Inhibits LPS-Induced Microglial Death via Inducing p62-Dependent HO-1 Expression, Inhibiting MLKL and Activating PARP-1. Antioxidants, 13, 481. <https://doi.org/10.3390/antiox13040481>
34. Hussein RA & El-Anssary AA. 2019. Plants secondary metabolites: The key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. Herbal Medicine, 2, 11–30. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76139>
35. IARC. International Agency for Research on Cancer. 2022. Estimated number of new cases in 2020, worldwide, both sexes, all ages. [Online]. Disponible en: <https://gco.iarc.fr/today/online-analysis->
36. Indrayanto G, Putra GS & Suhud F. 2021. Validation of in-vitro bioassay methods: Application in herbal drug research. Profiles of drug substances, excipients, and related methodology, 46, 273–307. <https://doi.org/10.1016/bs.podrm.2020.07.005>

37. INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 2025. Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer. [Online]. Disponible en: https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2025/EAP_D MvsCancer25.pdf
38. Jalali A, Mahmoudi S, Larki Harchegani A, Mohammadiasl J, Ahmadzadeh A. 2021. Evaluation of Nrf2, Keap1 and Apoptotic Pathway Genes Expression in Acute Myeloid Leukemia Patients. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 20, 398-407. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2019.14907.12738>
39. Jeong JY, Lee DH & Kang SS. 2013. Effects of chronic restraint stress on body weight, food intake, and hypothalamic gene expressions in mice. Endocrinology and Metabolism, 28, 288-96. <https://doi.org/10.3803/EnM.2013.28.4.288>
40. Kaloni, D., Diepstraten, S.T., Strasser, A, Kelly GL. 2023. BCL-2 protein family: attractive targets for cancer therapy. Apoptosis, 28, 20–38. <https://doi.org/10.1007/s10495-022-01780-7>
41. Khameneh B, Iranshahy M, Soheili V & Fazly Bazzaz BS. 2019. Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint. Antimicrobial Resistance & Infection Control, 118. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0559-6>
42. Khan T, Ali M, Khan A, Nisar P, Jan SA, Afridi S & Shinwari ZK. 2019. Anticancer Plants: A Review of the active phytochemicals, applications in animal models, and regulatory aspects. Biomolecules, 10(1), 47. <https://doi.org/10.3390/biom10010047>
43. Kyriakopoulou E, Tsakni A, Korakidis E, Mpekoulis G, Kalliampakou KI, Polanska M, Van Impe JFM, Tsakali E, Houhoula D & Vassilaki N. 2025. Evaluation of polyphenolic compounds common in Greek medicinal plants for their antioxidant effects and antiviral activity against dengue and yellow fever viruses. Antioxidants, 14, 1103. <https://doi.org/10.3390/antiox14091103>
44. Li C, Wu J, Dong Q, Ma J, Gao H, Liu G, Chen Y, Ning J, Lv X, Zhang M, Zhong H,

45. Li F, Aljahdali IAM, Zhang R, Nastiuk KL, Krolewski JJ, Ling X. 2021. Kidney cancer biomarkers and targets for therapeutics: survivin (BIRC5), XIAP, MCL-1, HIF1 α , HIF2 α , NRF2, MDM2, MDM4, p53, KRAS and AKT in renal cell carcinoma. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 40, 254. <https://doi.org/10.1186/s13046-021-02026-1>
46. Løvstad RA. 1986. Fatty acid induced hemolysis. protective action of ceruloplasmin, albumins, thiols and vitamin C. *International Journal of Biochemistry*, 18, 771-775. [https://doi.org/10.1016/0020-711X\(86\)90052-2](https://doi.org/10.1016/0020-711X(86)90052-2)
47. Maheshwaran L, Nadarajah L, Senadeera NN, Ranaweera CB, Chandana AK, Pathirana RN. 2024. Phytochemical Testing Methodologies and Principles for Preliminary Screening/Qualitative Testing. *Asian Plant Research Journal*, 12, 11–38. <https://doi.org/10.9734/aprj/2024/v12i5267>
48. Mendoza Lara DF, Hernández-Caballero ME, Terán JL, Ramírez JS & Carrasco-Carballo A. 2025. Anticancer activities of natural and synthetic steroids: A review. *ACS omega*, 10, 7493-7509.
49. Mustafa M, Ahmad R, Tantry IQ, Ahmad W, Siddiqui S, Alam M, Abbas K, Moinuddin, Hassan I, Habib S & Islam S. 2024. Apoptosis: A comprehensive overview of signaling pathways, morphological changes, and physiological significance and therapeutic implications. *Cells*, 13(22), 1838. <https://doi.org/10.3390/cells13221838>
50. NIH. National Institutes of Health. 2025. LiverTox: Clinical and research information on drug-induced liver injury. Clinical course and diagnosis of drug induced liver disease. [Online]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548733/>
51. Nurgali K, Jagoe RT & Abalo R. 2018. Editorial: Adverse effects of cancer chemotherapy: Anything new to improve tolerance and reduce sequelae? *Frontiers in Pharmacology*, 1–3. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00245>
52. Nurgali K, Jagoe RT & Abalo R. 2018. Editorial: Adverse effects of cancer chemotherapy: Anything new to improve tolerance and reduce sequelae? *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1–3. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00245>

53. OECD/OCDE. 2002. Test No. 423: Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method; OECD Publishing: Paris, France. ISBN 9789264071001.
54. OMS. Organización Mundial de la Salud. 2022. Cáncer. [Online]. Disponible en: https://www.who.int/es/health-topics/cancer#tab=tab_1
55. Orozco-Barocio A, Paniagua-Domínguez BL, Benítez-Saldaña PA, Flores-Torales E, Velázquez-Magaña S & Nava HJA. 2013. Cytotoxic effect of the ethanolic extract of *Lophocereus schottii*: A mexican medicinal plant. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*, 10(3), 397–404.
56. Orozco-Barocio A, Robles-Rodríguez BS, Méndez-López LF, Godínez-Rubí M, Rivera G, Rojas Mayorquín AE & Ortuno-Sahagun D. 2022. In vitro anticancer activity of the polar fraction from the *Lophocereus schottii* ethanolic extract. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 820381. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.820381>
57. Orozco-Barocio A, Sánchez-Sánchez MA, Rojas-Mayorquín AE, Godínez-Rubí M, Reyes-Mata MP & Ortuño-Sahagún D. 2024. Phytochemicals from Cactaceae family for cancer prevention and therapy. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1421136. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1421136>
58. Panahizadeh R, Vatankhah MA, Safari A, Danesh H, Nazmi N, Gholizadeh P, Soozangar N. 2024. The interplay between microRNAs and Nrf2 signaling in human cancers. *Cancer Cell International*, 24, 234.
59. Patel S, Patel S, Kotadiya A, Patel S, Shrimali B, Tank M, Patel T, Trivedi H, Kshirsagar S & Jain M. 2024. Comparative analysis of the effect of sex and age on the hematological and biochemical profile of BALB/c and C57BL/6 inbred mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 64(1), 132-145. <https://www.doi.org/10.30802/AALAS-JAALAS-24-075>
60. Pérez-Zúñiga JM, Aguilar-Andrade C, Álvarez-Vera JL, Augusto-Pacheco M, Báez-Islas E, Bates-Martín RA, Cervantes-Sánchez I, Espitia-Ríos ME, Estrada-Domínguez P, Jiménez-Alvarado R, Fermín-Caminero DJ, Socorro A,

- Gómez-Rosas P, Grimaldo-Gómez FA, Guzmán-Mera P, Martínez-Ramírez MA, Medina-Meza C, Mena-Zepeda V, Morales-Adrián JDJ & Salazar-Ramírez Ó. 2018. Generalidades sobre linfomas. *Revista de Hematología*, 19(4), 174–188.
61. Pilling A, Hwang C. 2019. Targeting prosurvival BCL2 signaling through Akt blockade sensitizes castration-resistant prostate cancer cells to enzalutamide. *The Prostate*, 79, 1347-1359. <https://doi.org/10.1002/pros.23843>
62. POWO. Plants of the world. 2025. *Lophocereus marginatus*. [Online]. Disponible en: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:60452047-2#synonyms>
63. Quintanilla-Licea R, Gómez-Flores R, Samaniego-Escamilla MÁ, Hernández-Martínez HC, Tamez-Guerra P & Morado-Castillo R. 2016. Cytotoxic effect of methanol extracts and partitions of two mexican desert plants against the murine lymphoma L5178Y-R. *American Journal of Plant Sciences*, 07(11), 1521–1530. <https://doi.org/10.4236/ajps.2016.711143>
64. Rada P, Rojo AI, Chowdhry S, McMahon M, Hayes JD, Cuadrado A. 2011. SCF/ β -TrCP promotes glycogen synthase kinase 3-dependent degradation of the Nrf2 transcription factor in a Keap1-independent manner. *Molecular and Cellular Biology*, 31, 1121-1133. <https://doi.org/10.1128/MCB.01204-10>
65. Ramírez-Villalobos JM, Romo-Sáenz CI, Morán-Santibañez KS, Tamez-Guerra P, Quintanilla-Licea R, Orozco-Flores AA, Romero-Arguelles R, Tamez-Guerra R, Rodríguez-Padilla C & Gómez-Flores R. 2021. In vitro tumor cell growth inhibition induced by *Lophocereus marginatus* (DC.) S. Arias and Terrazas endophytic fungi extracts. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(18), 9917. <https://doi.org/10.3390/ijerph18189917>
66. Rodríguez-Garza NE, Quintanilla-Licea R, Gómez-Flores R, Galaviz-Silva L & Molina-Garza ZJ. 2024. In vitro antiprotozoal activity of *Schinus molle*

- extract, partitions, and fractions against *Trypanosoma cruzi*. *Plants*, 13, 2177. <https://doi.org/10.3390/plants13162177>
67. Roy S, Shah Z & Chakraborty GS. 2024. A brief overview of drug-induced liver damage. *Egyptian Journal of Internal Medicine*, 36, 56. <https://doi.org/10.1186/s43162-024-00315-7>
 68. Safieh J, Chazan A, Saleem H, Vyas P, Danin-Poleg Y, Ron D, Haran TE. 2023. A molecular mechanism for the “digital” response of p53 to stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2305713120>
 69. Samaniego-Escamilla MA. 2016. Identificación de compuestos de *Pachycereus marginatus* (DC.) Britton & Rose e *Ibervillea sonora* (Watson) con actividad citotóxica contra el linfoma murino L5178Y-R. Universidad Autónoma de Nuevo León.
 70. Sánchez-Viesca F, Gómez-Gómez R. 2024. A complete and sustained organic/inorganic reaction mechanism of Baeyer’s test. *World Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 4, 1-5. <https://doi.org/10.53346/wjcps.2024.4.2.0023>
 71. Santos Sánchez N, Salas-Coronado R, Villanueva C & Hernandez-Carlos B. 2019. Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. In *Antioxidants*; Intechopen: London, UK, 2019. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85270>
 72. Sayyad M, Tiang N, Kumari Y, Goh BH, Jaiswal Y, Rosli R, Williams L & Shaikh MF. 2017. Acute toxicity profiling of the ethyl acetate fraction of *Swietenia macrophylla* seeds and in-vitro neuroprotection studies. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25, 196–205 <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2016.05.002>
 73. Sevastre AS, Manea EV, Popescu OS, Tache DE, Danoiu S, Sfredel V, Tataranu LG & Dricu A. 2022. Intracellular pathways and mechanisms of colored secondary metabolites in cancer therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(17), 9943. <https://doi.org/10.3390/ijms23179943>

74. Shaikh JR, Patil MK. 2020. Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8, 603-608. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>
75. Shen S, Shao Y & Li C. 2023. Different types of cell death and their shift in shaping disease. *Cell Death Discovery*, 9, 284. <https://doi.org/10.1038/s41420-023-01581-0>
76. Silva-Santana G, Bax JC, Fernandes DCS, Bacellar DTL, Hooper C, Dias AASO, Silva CB, de Souza AM, Ramos S, Santos RA, et al. 2020. Clinical hematological and biochemical parameters in Swiss, BALB/c, C57BL/6 and B6D2F1 *Mus musculus*. *Animal Models and Experimental Medicine*, 3(4), 304–315.
77. Silva-Santana G, Bax JC, Fernandes DCS, Bacellar DTL, Hooper C, Dias AASO, Silva CB, de Souza AM, Ramos S, Santos RA, Ramos-Pinto T, Antunes-Ramão M & Mattos-Guaraldi AL. 2020. Clinical hematological and biochemical parameters in Swiss, BALB/c, C57BL/6 and B6D2F1 *Mus musculus*. *Animal Models and Experimental Medicine*, 3, 304–315. <https://doi.org/10.1002/ame2.12139>
78. Sorby H. 1873. Chlorophyll Colouring-Matters*. *Nature*, 8, 224–225. <https://doi.org/10.1038/008224b0>
79. Stevens-Barrón J, de la Rosa LA, Wall-Medrano A, Alvarez-Parrilla E, Astiazarán-García H & Robles-Zepeda RE. 2017. Efectividad y principales mecanismos anticancerígenos de tocotrienoles en líneas celulares malignas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 48, 16-27.
80. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A & Bray F. 2021. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
81. Tajiri K & Shimizu Y. 2008. Practical guidelines for diagnosis and early management of drug-induced liver injury. *World Journal of Gastroenterology*, 14, 6774-85. <https://doi.org/10.3748/wjg.14.6774>

- 82.** Wang H, Wang Z, Zhang Z, Liu J & Hong L. 2023. β -Sitosterol as a promising anticancer agent for chemoprevention and chemotherapy: Mechanisms of action and future prospects. *Advances in Nutrition*, 14, 1085-1110. <https://doi.org/10.1016/j.advnut.2023.05.013>
- 83.** Wang Y, Luo W, Wang Y. 2019. PARP-1 and its associated nucleases in DNA damage response. *DNA Repair*, 81, 102651. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2019.102651>
- 84.** Workman P, Aboagye EO, Balkwill F, Balmain A, Bruder G, Chaplin DJ, Double JA, Everitt J, Farningham DAH, Glennie MJ, Kelland LR, Robinson V, Stratford IJ, Tozer GM, Watson S, Wedge SR & Eccles SA. 2010. Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research. *British Journal of Cancer*, 102, 1555-1577. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605642>
- 85.** Woyengo T, Ramprasath V & Jones P. 2009. Anticancer effects of phytosterols. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63, 813–820. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2009.29>
- 86.** Yuan R, Hou Y, Sun W, Yu J, Liu X, Niu Y, Lu JJ & Chen X. 2017. Natural products to prevent drug resistance in cancer chemotherapy: a review. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1401(1), 19–27. <https://doi.org/10.1111/nyas.13387>
- 87.** Zhou Y, Zhang J, Wang K, Han W, Wang X, Gao M, Wang Z, Sun Y, Yan H, Zhang H, Xu X & Yang, DH. 2020. Quercetin overcomes colon cancer cells resistance to chemotherapy by inhibiting solute carrier family 1, member 5 transporter. *European Journal of Pharmacology*, 881, 173185.