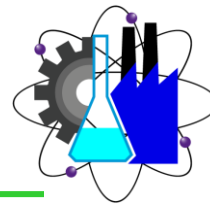




UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

**“ESTUDIO SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL
EXTRACTO METANÓLICO DEL BAGAZO DEL BRÓCOLI,
Brassica oleracea var. itálica”**

T E S I S

Que para obtener el título de:

QUÍMICO INDUSTRIAL

Presenta:

DELIZAIEL CADENAS PONCE

Director de tesis:

DRA. MAYRA YANETH ANTUNEZ MOJICA

Cuernavaca, Morelos

2023.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS**

Este trabajo fue realizado en el laboratorio 321 de Biomoléculas, del Centro de Investigaciones Químicas, IICBA de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM) bajo la dirección de la Dra. Mayra Yaneth Antunez Mojica y con en el proyecto No. 534 del programa de Investigadores e Investigadoras por México del CONAHCYT. La evaluación biológica se llevó a cabo en el Laboratorio 7 de la Facultad de Farmacia de la UAEM bajo la colaboración de la Dra. Leticia González Maya.



**CENTRO DE
INVESTIGACIONES
QUÍMICAS**



**Facultad de Ciencias
Químicas e Ingeniería**



AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Guadalupe y Urbano por ser los principales motores de mis sueños, por confiar y no dejar de creer en mí, por todo su amor, sacrificio y apoyo, por todos esos consejos y palabras que me han guiado en mi vida. Los quiero.



A mi hermana Ahtziri, quien me ha cuidado desde pequeña y me ha acompañado en esas incontables noches de estudio incluso estando lejos, quien me animaba cuando más lo necesitaba y que nunca ha dejado de creer en mí.



A mis compañeros y amigos del laboratorio 321, en especial a Araceli Guerrero, por sus consejos, su paciencia y las enseñanzas que me brindo en esta tesis.



A la Dr. Mayra Yaneth Antunez Mojica, por cada una de sus enseñanzas, por permitirme formar parte de su grupo de investigación, por todas las experiencias y vivencias, pero sobre todo por su gran paciencia y apoyo.



Al Laboratorio Nacional de Estructura de Macromoléculas (Conahcyt 321131) por la obtención de los resultados espectroscópicos.

ÍNDICE

Índice de figuras	V
Índice de tablas	V
Lista de anexos	VI
Lista de Abreviaturas.....	VII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1. Alimentos funcionales y nutraceuticos	2
2.2. Familia Brassicaceae (Crucíferas)	4
2.4. <i>Brassica oleracea</i> (vegetales crucíferos)	4
2.5. <i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>	5
2.5.2. Condiciones de cultivo y variedades comerciales de brócoli	6
2.5.3. Estudios químicos y farmacológicos del brócoli.....	7
2.5.4. Glucosinolatos y derivados	11
2.2. Cáncer y quimioprevención.....	15
3. JUSTIFICACIÓN	20
4. HIPÓTESIS	21
5. OBJETIVOS	22
5.1. Objetivo general	22
5.2. Objetivos particulares.....	22
6. PARTE EXPERIMENTAL	23
6.1. Técnicas cromatográficas e instrumentales	23
6.2. Cultivo del vegetal.....	24
6.3. Obtención del extracto	25
6.4. Fraccionamiento primario.....	25
6.5. Cromatografía de la fracción DCP-50-02	26
6.6. Cromatografía de la fracción DCP-50-03	29
6.7. Cromatografía de la fracción DCP-50-04	30
6.8 Actividad anticancerígena <i>in vitro</i>	31
7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	33
7.1. Análisis estructural de la Caulilexina C (DCP53-02)	37
7.2. Análisis estructural del 3-indolacetonitrilo (DCP53-03)	41

7.3. Efecto antiproliferativo <i>in vitro</i>	42
8. CONCLUSIONES	45
9. PERSPECTIVAS	46
10. ANEXOS	47
11. BIBLIOGRAFÍAS	67

Índice de figuras

Figura 1. Morfología de la familia Brassicaceae.....	4
Figura 2. Variedades de la especie <i>Brassica oleracea</i>	5
Figura 3. Estados de México productores de brócoli.....	7
Figura 4. Clasificación de glucosinolatos según aminoácidos de origen.	12
Figura 5. Glucosinolatos de mayor abundancia en el brócoli.	13
Figura 6. Ejemplo de biosíntesis de Isotiocianatos y su degradación.....	14
Figura 7. Reordenamiento de Lossen.	15
Figura 8. Nuevos casos de cáncer estimados en el 2020	16
Figura 9. Cosecha de pella de brócoli	25
Figura 10. CCF comparativa de las reuniones del fraccionamiento primario	26
Figura 11. CCF comparativa de recolecciones de DCP53-03	27
Figura 12. CCF comparativa de recolecciones de DCP53-03	28
Figura 13. Extracción líquido-líquido de fracción DCP-50-04	31
Figura 14. Diagrama general del proceso cromatográfico de purificación.	36
Figura 15. Sistema ABXY 1,2 disustituido para el anillo de la Caulilexina C	38
Figura 16. Señales correspondientes a hidrógenos 10 y 12.....	39
Figura 17. Correlaciones HMBC de Caulilexina C.....	41

Índice de tablas

Tabla 1. Ejemplos de nutraceuticos y sus beneficios terapeuticos	3
Tabla 2. Valor nutricional de 100 g de porción de brócoli fresco.....	6
Tabla 3. Compuestos reportados del extracto de Brócoli.	8
Tabla 4. Glucosinolatos presentes en crucíferas	11
Tabla 5. Factores de riesgo y tratamiento para el cáncer cervicouterino.	17
Tabla 6. Clasificación de quimiopreventivos según su estructura química	18
Tabla 7. Fraccionamiento primario del extracto	26
Tabla 8. Fraccionamiento de DCP-50-02.....	27
Tabla 9 Fraccionamiento de DCP-50-03.....	29
Tabla 10. Compuestos detectados por CG-EM.	33
Tabla 11. Correlaciones HSQC.....	40

Lista de anexos

Espectro 1. CG-EM (Ion mode: FAB+) de Caulilexina C (10)	48
Espectro 2. IR de Caulilexina C (10)	49
Espectro 3. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 600 MHz) de caulilexina C (10)	50
Espectro 4. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 150 MHz) de caulilexina C (10)	51
Espectro 5. RMN COSY (CDCl ₃ , 600 MHz) de caulilexina C (10)	52
Espectro 6. RMN HSQC (CDCl ₃ , 600 MHz) de caulilexina C (10)	53
Espectro 7. RMN HMBC (CDCl ₃ , 600 MHz) de caulilexina C (10)	54
Espectro 8. CG-EM (Ion mode: FAB+) de 3-indolacetonitrilo (11)	55
Espectro 9. IR de 3-indolacetonitrilo (11)	56
Espectro 10. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 600 MHz) de 3-indolacetonitrilo (11)	57
Espectro 11. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 150 MHz) de 3-indolacetonitrilo (11)	58
Espectro 12. RMN COSY (CDCl ₃ , 600 MHz) de 3-indolacetonitrilo (11)	59
Espectro 13. RMN HSQC (CDCl ₃ , 600 MHz) de 3-indolacetonitrilo (11)	60
Espectro 14. RMN HMBC (CDCl ₃ , 600 MHz) de 3-indolacetonitrilo (11)	61
Espectro 15. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 600 MHz) de n-acido hexadecanoico (12)	62
Cromatograma 1. CG-EM de DCP53-02	63
Cromatograma 2. CG-EM de ácido hexadecanoico (12)	64
Cromatograma 3. CG-EM de éster del ácido bis-(2-etilhexil) (13)	65
Cromatograma 4. CG -EM del éster del ácido Hexadecanoico-2-hidroxi-1-(hidroximetil)etil (14)	66

Lista de Abreviaturas

µmol/L	Micromole por litro a Mole por litro
A549	Células de carcinoma de pulmon
A431	Carcinoma epidermoide
AcOEt	Acetato de etilo
ATCC	American Type Culture Collection
Caco-2	Células d adenocarcinoma colorrectal
CCA	Cromatografía en columna abierta
CCF	Cromatografía en capa fina
CG-EM	Gases Acoplado a Espectrometría de Masas
DAD	Detector de arreglo de diodos
DCM	Diclorometano
ddd	doble de doble de dobles
DMEM	Medio Eagle modificado de Dulbecco
DMSO	dimetil sulfóxido
EESI-MS	Espectrometría de masas de ionización por electropulverización extractiva
ESM	Proteína modificadora del epitioespecificador
ESP	Proteínas epitioespecíficas
FM	Formula molecular
HeLa	Línea celular de cáncer cervicuterino
Hep3B	Línea celular de cáncer de Hígado
HepG2	Células de carcinoma hepatocelular
HMBC	Heteronuclear multiple bond correlation
HSQC	Heteronuclear single quantum coherence
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
Hz	Hertz
IC ₅₀	Concentración inhibitoria media
IE	Impacto Electrónico
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
IR	Espectroscopia de infrarrojo

<i>J</i>	Constante de acoplamiento
Jurkat	Línea celular de leucemia linfoblástica T aguda humana
m/z	relación masa a carga
MCF-7	Carcinoma de mama
MeOH	Metanol
mM	Milimolar
MS	Espectrometría de masas
MS-MS	Espectrometría de masas tándem
NSP	Proteínas especificadoras de nitrilo
OMS	Organización mundial de la salud
OSC's	Organosulfurados
PC3	Línea celular de cáncer de prostata
PM	Peso molecular
ppm	Partes por millón
QqQ	triple cuadrupolo
RMN	Resonancia magnética nuclear
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de protón
s	singulete
UHPLC	Ultra High Performance Liquid Chromatography
UV	Ultravioleta
VPH	Virus del papiloma humano

1. INTRODUCCIÓN

La alimentación juega un papel importante dentro de la salud humana debido a la importancia que tienen los macro y micronutrientes en la prevención y/o tratamiento de algunas enfermedades gastrointestinales, inflamatorias, obesidad e incluso cáncer. En este sentido, en décadas recientes se han incluido el nuevo término de alimentos funcionales, debido a su capacidad de aportar algún beneficio a la salud más allá de sus nutrientes como alimento.

Se ha demostrado que una dieta rica en vegetales crucíferas reduce el porcentaje de padecer enfermedades crónicas como la obesidad y la diabetes, esto por su contenido fitoquímico y bioactividades, tales como derivados de nitrógeno, azufre, polifenoles, además de minerales y vitaminas (A, C, K, B6).^{1,2}

El brócoli, *Brassica oleracea* variedad *italica*, es un vegetal crucífero perteneciente a la familia Brassicaceae, es de importancia económica en México siendo el segundo en exportación. Algunos otros vegetales de esta especie se caracterizan por su alto contenido de metabolitos secundarios organosulfurados. En cuanto a actividades farmacológicas, se ha reportado actividad anticarcinogénica, antioxidante, antimicrobial, antidiabética, entre otras.³

La presente tesis tiene como objetivo conocer los metabolitos secundarios más abundantes del extracto metanólico de bagazo de brócoli con el fin de conocer su contenido químico y su actividad citotóxica *in vitro*.

2. ANTECEDENTES

2.1. Alimentos funcionales y nutraceuticos

En la actualidad la nutrición ha presentado un auge de interés debido a la relación que presenta respecto a enfermedades y padecimientos, se sabe que el impacto que tendrá la alimentación del consumidor puede afectar ya sea positiva o negativamente en el estado de bienestar del individuo. Estos alimentos que promueven la salud son conocidos como Alimentos Funcionales, este término se usó por primera vez en los años 80's y tiene sus orígenes en Japón con el concepto de desarrollar alimentos que mejoran la salud y reducen el riesgo de enfermedades, con la característica de poseer componentes capaces de afectar funciones en un sistema en particular más allá de su aporte nutricional como alimento.^{4,5}

La Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos los define como "cualquier alimento o ingrediente que proporcione un beneficio para la salud superior al que aportan los nutrientes tradicionales que contenga".⁶ Estos pueden abarcar desde macronutrientes y micronutrientes ya sea naturales o modificados y deben de seguir siendo en todo momento un alimento que realice sus efectos consumidos dentro de una dieta equilibrada. Como ya sabemos, las frutas, verduras, cereales y leguminosas son ricos en nutrientes como la fibra, minerales y vitaminas, pero estos también poseen otros compuestos que no lo son, pero tienen propiedades saludables; a estos compuestos se les conoce como fitoquímicos que son metabolitos secundarios que producen las plantas y tienen la capacidad de proveer una protección adicional o suprimir procesos dañinos debido a los polifenoles, vitaminas antioxidantes, carotenoides y otros fitoquímicos con actividad biológica.^{4,7}

Las actividades biológicas que presentan estos fitoquímicos ha abierto nuevas oportunidades en la industria alimentaria, creando suplementos que potencialicen e impacten favorablemente la salud humana, estos alimentos reciben el nombre de nutraceuticos, este término fue creado por el endocrinólogo Stephen DeFelice en 1989. Los nutraceuticos son elaborados a partir de una sustancia bioactiva

presente en alimentos, estos productos una vez extraídos se estudian para identificar sus propiedades biológicas; posteriormente, cuando estos son documentados pueden pasar a ser comercializadas en presentaciones como píldoras, capsulas y polvos.⁸

Para su clasificación se menciona tres categorías:

Nutrientes: como vitaminas, aminoácidos, minerales y ácidos grasos.

Herbales: Compuesto químicos obtenidos de concentrados o extractos como fibras, antioxidantes, carotenos y ácidos grasos.

Suplementos de la dieta: productos derivados de otras fuentes como sulfato de condroitina, piruvato, etc.⁹

Se han realizado varios estudios tanto de diversos nutraceuticos como de alimentos donde se han registrado los beneficios terapéuticos que ofrecen, algunos de estos productos se registraron en la siguiente Tabla 1, dentro de los que se encuentra el brócoli:

Tabla 1. Ejemplos de nutraceuticos y sus beneficios terapéuticos.^{10,11}

Alimentos o productos nutraceuticos	Forma de obtención y/o sustancia activa	Acción terapéutica
Producto lipoesar	lipoproteína de origen marino (pez S. pilchardus)	Propiedades hipolipemiantes y antiarterioscleróticas
Licopeno	Tomates, sandía.	Salud de la próstata
Producto Biokin	Origen vegetal, derivados del cereal Chenopodium Quinoa	Actúa en situaciones de déficit nutricional, anemia, astenia, celiaca, madres lactantes y debilidad senil.
Antioxidantes fenólicos flavonoides	Uva, fresa, ajo, manzana, espinaca, te, granada, etc.	Prevención de cáncer, colesterolemia, embolias, y arterioesclerosis, ataques cardiacos.
Flavanonas	Cítricos	Neutralizar los radicales libres, reducir el riesgo de algunos cánceres.
Isoflavanonas	Soya	Disminuir el LDL y el colesterol total.
Proantoc-ianidinas	Arándanos	Mejora la salud del tracto urinario.
Antioxidante Luteína	Brócoli, Espinaca, maíz amarillo, cereales, hojas de col, etc.	Prevención de la degradación macular, cataratas y retrasa los síntomas de retinitis pigmentosa.
Antioxidante Selenio	Levadura Se-Metionina, selenito de sodio y compuestos enriquecidos con Se-Metionina.	Prevención de cáncer de próstata, colon y pulmón, enfermedades cardiovasculares, refuerza el sistema inmunológico.
Fibra dietética insoluble	Hortalizas, frutas, arroz salvaje, granos integrales y salvado de trigo.	Prevención de cáncer de colon, hemorroides, mejoramiento de la función intestinal.
Ácidos grasos del omega 3	Limaza, aceite de pescado y de algas.	Prevención de la arterioesclerosis y enfermedades cardiovasculares.

probióticos

Quesos fermentados, yogurt, leche y mantequilla.

Prevención de enfermedades diarreicas, cáncer de colon y colesterolemia. Salud intestinal.

2.2. Familia Brassicaceae (Crucíferas)



La familia Brassicaceae es el grupo más grande de hortalizas, tiene sus orígenes en el mediterráneo, en China e India.¹² Su morfología consiste en flores en forma de cruz, siendo un rasgo distintivo por lo cual reciben su nombre de vegetales crucíferos, por lo general tienen seis estambres, una cápsula que contiene un tabique y una savia acuosa ocre (Figura 1). Debido a su amplio linaje se ha tenido dificultades para identificar géneros pertenecientes, pero se han enlistado aproximadamente un total de 338-336 géneros y aproximadamente 3709 especies.^{13,14}

Figura 1. Morfología de la familia Brassicaceae.

2.4. *Brassica oleracea* (vegetales crucíferos)

Es una de las especies más representativas del género *Brassica* se considera una planta bienal que en su primer año da como resultado una roseta de hojas voluminosas, posteriormente en su segundo año se pueden distinguir la formación de inflorescencias que pueden llegar a medir entre 1 o 2 metros de altura. Se considera que ha sido cultivada por más de 2000 años debido a la gran cantidad de variantes, como son el repollo, la col rizada, el colinabo, la coliflor, el brócoli, y las coles de Bruselas.^{15,16} Las variantes de *B. oleracea* se pueden clasificar en grupos de cultivo como se muestra a continuación, (Figura 2), por ejemplo, la var. *botrytis* conocido como coliflor, var. *capitata* es la col de repollo y var. *italica* es el brócoli.¹⁷



Figura 2. Variedades de la especie *Brassica oleracea*

2.5. *Brassica oleracea* var. *italica*

Comúnmente conocida como brócoli, es una hortaliza de la familia Brassicaceae correspondiente al género *Brassica*. La palabra brócoli tiene origen italiano y significa “brazo o rama” como referencia a los brotes. Su morfología consiste en una raíz pivotante, del tallo se desprenden los pedúnculos (primarios, secundarios, terciarios), en la parte superior se encuentran las inflorescencias que en su estado inmaduro es la parte comestible y conforman lo que se conoce como pellas que comúnmente están rodeadas de hojas que presentan una cutícula cerosa e impermeable, color verde oscuro y fostoneadas.³ Se ha despertado gran interés en sus plántulas debido a su gran aporte nutricional (Tabla 2) y a los compuestos bioactivos que se han encontrado en múltiples estudios, por lo que es considerado un superalimento debido a su impacto favorable hacia la salud.

Tabla 2. Valor nutricional de 100 g de porción de brócoli fresco.¹⁸

INFORMACIÓN NUTRIMENTAL	
Porción: 100g de brócoli fresco	
Energía (Kcal)	28
Proteínas (g)	3.1
Grasa total (g)	0.1
Hidratos de carbono disponibles (g)	2.4
Fibra dietética total (g)	3
Sodio (mg)	24
Potasio (mg)	180
Vitamina A (μ ER)	51
Vitamina C (mg)	40.1
Vitamina E (mg ET)	1.3
Ac. Fólico (μg)	30
Calcio (mg)	51
Hierro (mg)	0.6

2.5.2. Condiciones de cultivo y variedades comerciales de brócoli

El sistema de siembra más utilizado para el brócoli es el trasplante a raíz desnuda mediante una charola de germinación. Las condiciones que se deben cuidar después de un día a la siembra son el abastecimiento de agua y la temperatura (15 -18 °C). El terreno donde se trasplantará debe cumplir los siguientes criterios, no tener acidez excesiva, estar libre de malezas, buena nivelación y haber sido fertilizado. Una vez que las características del suelo son buenas se realiza el trasplante a las 3- 4 semanas. El brócoli puede ser cosechado a los 50-60 días después del trasplante.¹⁹

México ocupa el segundo lugar en producción de brócoli a nivel mundial exportando la cantidad de 400,212 kg. Los estados con mayor producción son: Guanajuato siguiéndole, Michoacán, Puebla, Jalisco y Sonora. (Figura 3). Posteriormente es exportado a Europa, Asia y a países del continente americano.^{20,21}

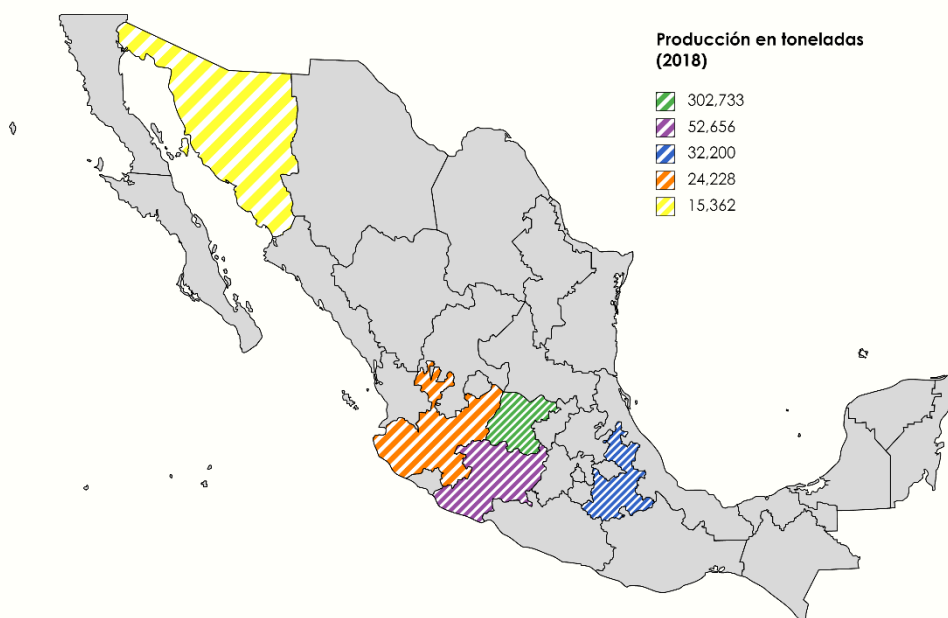


Figura 3. Estados de México productores de brócoli.²¹

La producción de brócoli se realiza en dos periodos; primavera-verano y otoño-invierno por lo que se han introducido variedades que pueden soportar las distintas condiciones ambientales, algunas de las más cultivadas en México son: Horitage (altos rendimientos y brotes finos para temporada caliente y seca), Ironman (Estándar para mercado fresco), Tláloc (precocidad y alto rendimiento), Triathlon (Brotes pesados), Arcadia (Rentable en frescos y congelados) y Expo (para temperaturas bajas). Estas variables son híbridas por lo que han sido manipuladas en laboratorios para su uso.^{22,23}

2.5.3. Estudios químicos y farmacológicos del brócoli

El brócoli posee una cantidad beneficiosa de nutrientes para la salud, una dieta rica en estas hortalizas, según estudios, reducen el riesgo de enfermedades crónicas, gracias a sus propiedades antioxidantes, anticancerígenas, antimicrobianas, antiinflamatorias y antidiabéticas. Sus propiedades fitoquímicas juegan un papel muy importante debido a la presencia de compuestos bioactivos que son el producto final de los procesos metabólicos. Existen varios estudios que respaldan sus beneficios ante enfermedades por lo que, últimamente han sido un

tema muy estudiado por la comunidad científica, como los extractos donde se reportan la presencia de compuestos derivados de nitrógeno y azufre como los glucosinatos e isotiacinatos, siendo estos últimos los de mayor presencia, sin embargo, también existen polifenoles derivados del ácido clorogénico y sinapínico, flavonoides, además de minerales como selenio, manganeso y vitaminas A, C y B6.^{2,24}(Tabla 3).

Tabla 3. Compuestos reportados del extracto de Brócoli.

Extracto	Compuestos más abundantes	Detector	Actividad biológica	Re f.
Floretes de Brocólí congelado (-20 °C)	Glucobrasicina, Glucorafanina, Glucoerucina, Sinigrina, Progoitrina	HPLC-PDA/DAD	NR	25
Inflorescencia de brócoli hervido	Glucobrasicina, Glucorafanina, 4-Hidroxiglucobrasicina, Gluconasturtin, 4-metoxiglucobrasicina, Neoglucobrasicina	HPLC/ MS	antioxidante a nivel fracción	26
Brotos de Brócoli crudo	Glucobrasicina, Glucorafanina, Glucoerucina, Indol 4-hidroxiglucobrasicina, 4-metoxiglucobrasicina, Neoglucobrasicina	LC-MS HPLC-DAD	NR	27
Brotos de Brócoli crudo	Glucorafanina, Glucoerucina, Gluconapina, Progoitrina, Sinigrina, 4-hidroxiglucobrasicina, 4-metoxiglucobrasicina, Glucobrasicina, Neoglucobrasicina Nitrilo de Erucina, Erucina, Nitrilo de Sulforafano, Sulforafano	GC-MS	NR	28
Florete de Brócoli crudo	Glucobrasicina, 4-Metoxiglucobrasicina, 4-hidroxiglucobrasicina, Neoglucobrasicina, Glucorafanina	LC-MS	Capacidad antioxidante a nivel fracción	29
Semillas de Brócoli	Glucorafanina,	HPLC-DAD	Capacidades antiinflamatorias anticancerígena	30

Extracto de brócoli	Glucoiberina, Glucorafanina, 4-Hidroxi-glucobrasícina, Glucobrasícina, 4-Metoxi-Glucobrasícina, Neoglucobrasícina	HPLC	Actividad antioxidante y antiproliferativa	31
Cabeza Fresca de Brócoli Parthenon	Glucobrasícina, Gluconasturtin, Glucobrassicinapina, Glucorafanina, Glucoiberina, Glucoalisina, Sinigrina, Gluconapina, Progoitrina, 4-Metoxi-Glucobrasícina, Neoglucobrasícina	LC-ESI (-) /MS-MS	Bioaccesibilidad	32
Semillas de brócoli	Glucorafanina	HPLC	Anticancerígena	33
Floretes de brócoli de china	Glucorafanina, Glucobrasícina, 4-Metoxiglucobrasícina, Neoglucobrasícina, Glucoiberina, Epiprogoitrina, Sinigrina, Glucoalisina, 4-Hidroxi-glucobrasícina, Gluconasturtin	HPLC	Anticancerígena	34
Encapsulación de extracto de brócoli	Glucobrasícina, 4-O-Glucósido, Neoglucobrasícina	LC-MS	Actividades antioxidante antihiperglucémica	35
Semillas de brócoli	Sulforafano	LC-MS	Actividad anticancerígena	36
Jugo de brotes de brócoli	Glucorafanina, Sulforafano	LC-MS	Actividad anticancerígena	37
Extracto de brócoli	Glucoerucina, Glucobrassicina, 4-Hidroxi-glucobrassicina, Glucorafanina, Gluconapina, Neoglucobrassicina	-	Actividad antioxidante	38
Hojas de brócoli	Glucoiberina, Glucorafanina, Glucobrasincina, Neoglucobrasícina, Metoxiglucobrasícina	UHPLC	Antifúngica	39
Tallo de brócoli	Glucoerucina, Glucobrasícina, 4-Metoxiglucobrassicina, 4-Hidroxi-glucobrassicina	LC-ESI-MS /MS	Antimicrobiana Antioxidante	40
floretes de brócoli	Glucosinolato Glucoiberina, Progoitrina, Sinigrina, Glucorafanina, Glucoalisina, Gluconapina, 4-Hidroxi-glucobrasícina, Glucoerucina, Glucobrasícina, 4-	HPLC-DAD	NR	41

	Metoxiglucobrasicina, Neoglucobrasicina			
Flores de brócoli	Sinigrín, Gluconapina, Glucobrasicanapina, Progoitrina, Glucoerucina, Glucorafanina, Glucorafanina, Glucoalisina, Glucobrasicina, Neoglucobrasicina, 4- Metoxiglucobrasicina, Glucotropaeolina, Gluconasturtina	HPLC-MS/MS	anticancerígeno	42
cabeza de brócoli	Glucorafanina, Glucobrasicina, Neoglucobrasicina, 4- Metoxiglucobrasicina, 4- Hidroxiglucobrassicina	LC- MS/MS UPLC	NR	43
brotos y raíces	Glucorafanina, Gluconasturtina, Glucobrasicina, Metoxiglucobrasicina, Neoglucobrasicina, Cinamoil (Feruloil)-Indol	UHPLC-QqQ- MS/MS	antifúngica	44
Floretes	Sinigrín, Gluconapina, Glucobrasicanapina, Progoitrina, Glucoerucina, Glucoiberina, Glucobrasicina, Metoxiglucobrasicina, Neoglucobrasicina, 4- Metoxiglucobrasicina, 4- Hidroxiglucobrassicina	GC-MS	NR	45
cabeza	Glucorafanina, Glucobrasicina, Neoglucobrasicina, 4- Metoxiglucobrasicina	UHPLC-DAD- ESI/MS	NR	46
cabeza cocida	Neoglucobrasicina, Sinigrín, Progoitrina, Gluconapina	LC-MS	NR	47
brotos	Glucobrasicina, Glucoerucina; Glucoiberina; Glucorafanina; Clucorafenina; 4- Hidroxiglucobrasicina, 4- Metoxiglucobrasicina, Neoglucobrasicina Iberina, Indol-3-Carbinol, Sulforafano, Sulforafeno	UHPLC-QqQ- MS/MS	antimicrobiano	48
Hojas, tallos e inflorescencias	Glucobrassicina Glucorafanina Metoxiglucobrassicina	HPLC-UV-ESI- MS/MS	antihipertenciba antimicrobiana antioxidante	49
brotos	Gluconapina, Progoitrina, Glucoerucina, Glucoiberina, Glucorafanina, 4- metoxiglucobrasicina Indole-3-Carbinol	EESI-MS	NR	50

brotos	Glucorafanina	HPLC	NR	51
floretes	Glucobrasicina, Glucorafanina, Metoxiglucobrasicina, 4-Metoxiglucobrasicina, Neoglucobrasicina, Glucoerucina, Epiprogoitrina, Glucoalisina, Gluconapoleiferina, Gluconasturtina, Glucoiberina	HPLC	NR	52
hojas	Glucoiberina, Glucorafanina, Glucobrasicina, Neoglucobrasicina	HPLC-DAD	NR	53
Semillas, brotes y cabeza	Glucorafanina, Glucoiberina, 4-Metoxiglucobrasicina	HPLC	NR	54

NR=No reportado

2.5.4. Glucosinolatos y derivados

El término de glucosinolatos fue propuesto por primera vez por Dateo en 1961, los glucosinolatos son moléculas constituidas por una fracción de glucosilo (“gluco”), un grupo sulfato (ate) y su propiedad de ser un precursor de un aceite de mostaza (sinol). Los glucosinolatos son metabolitos secundarios que se encuentran específicamente en las plantas del género *Brassica*, como en la col rizada, repollo y brócoli, la cantidad de GLS varía de una especie a otra debido al tipo de tejido de cada planta.^{2,55}(Tabla 4).

Tabla 4. Glucosinolatos presentes en crucíferas

Hortalizas crudas	Glucosinolatos totales (mg/100 g pf)
Coles de Bruselas	236.6
Kale	100.7
Nabo	92
Calabaza roja	64
Brócoli	61.7
Coliflor	43.2

Químicamente están formados por un núcleo que contiene residuos β -D-glucopiranososa y aglicona, unida a través de un átomo de azufre a un éster de sulfato de n-hidroxiimino, estos se distinguen por un grupo R derivado de

aminoácidos, debido a sus propiedades son compuestos hidrofílicos, no volátiles e inoloros.⁵⁵ Los glucosinolatos se derivan en el tejido vegetal mediante la biosíntesis de aminoácidos, se sabe que existen 100 tipos diferentes de glucosinolatos dentro del reino vegetal. Se clasifican en: indol proveniente de triptófano (**A**), aromáticos provenientes de fenilalanina (**B**) o tirosina (**C**) y por último el grupo alifático provenientes de metionina (**D**), alanina (**E**), leucina (**F**) y valina (**G**), siendo éste el grupo más abundante.^{2,31}

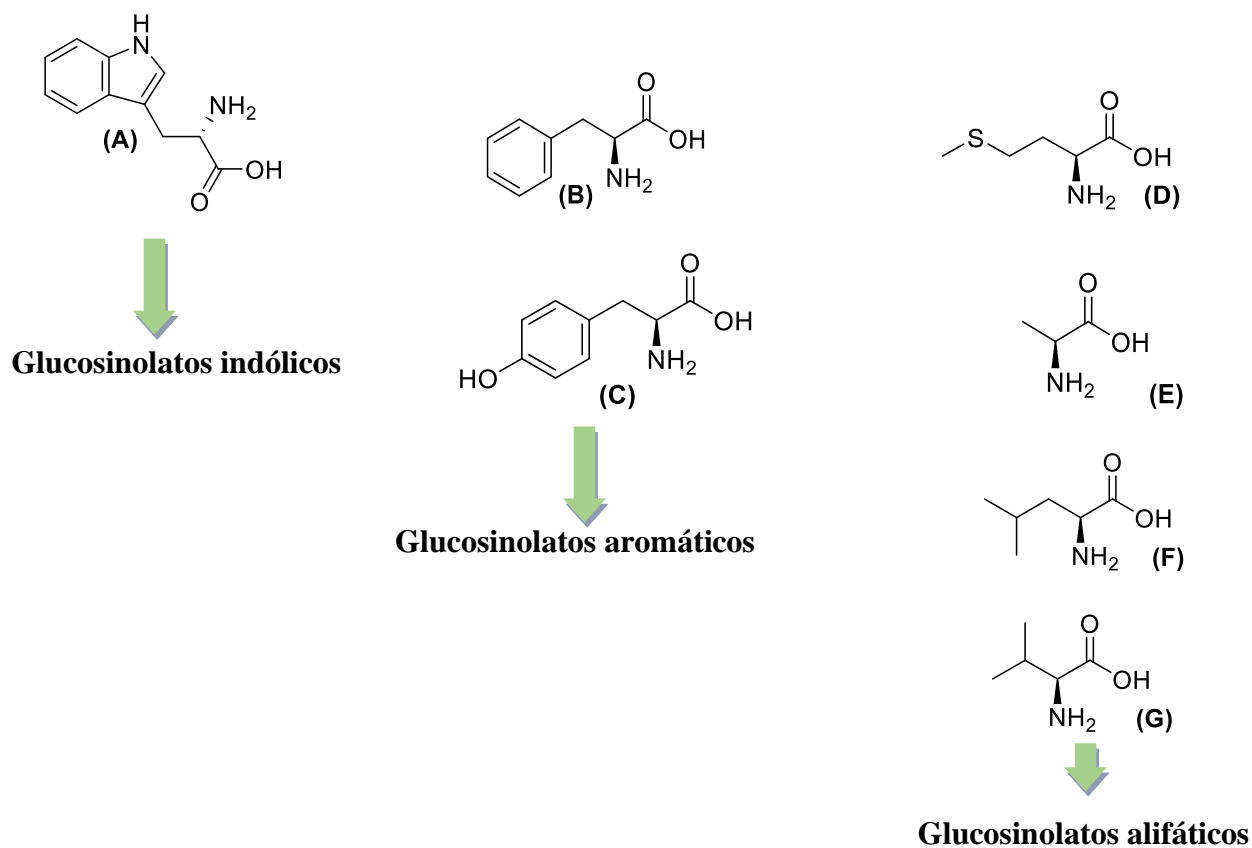


Figura 4. Clasificación de glucosinolatos según aminoácidos de origen.

Solo en el brócoli se ha reportado la presencia de 26 glucosinolatos, de los cuales cinco se encuentran en mayor abundancia, estos son: Glucorafanina (**H**) seguida de la Glucoiberina (**I**), Glucoerucina (**J**), Glucobrasicina (**K**) y Neoglucobrasicina (**L**).²

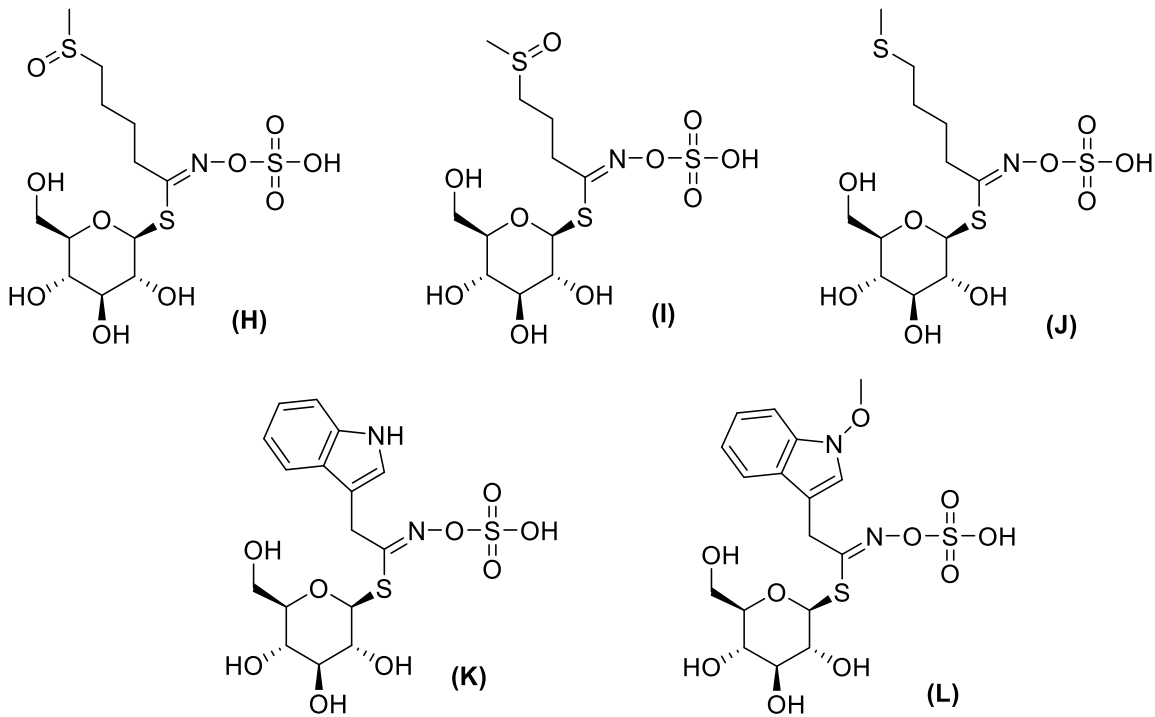


Figura 5. Glucosinolatos de mayor abundancia en el brócoli.

En general los glucosinolatos no son moléculas biológicamente activas si no sus productos de hidrolisis. Los glucosinolatos se encuentran en las vacuolas de las plantas en un estado estable, cuando la planta sufre algún daño mecánico, activa la enzima mirosinasa que desencadena el proceso de hidrolisis liberando moléculas de glucosa, bisulfato y aglicona esta última experimenta un reacomodamiento que da como resultados productos de degradación como: isotiocianatos, tiocianatos, nitrilos, epitionitrilos y oxazolidinas. La naturaleza de dichos productos depende de la estructura del glucosinolato de origen y de las condiciones de reacción: pH, iones ferros, proteínas epitioespecíficas (ESP) y las propiedades en las que se cultiva la planta, los cuales son; temperatura, insecticidas, radiación y suministro de agua^{2,3,31,55} (Figura 6).

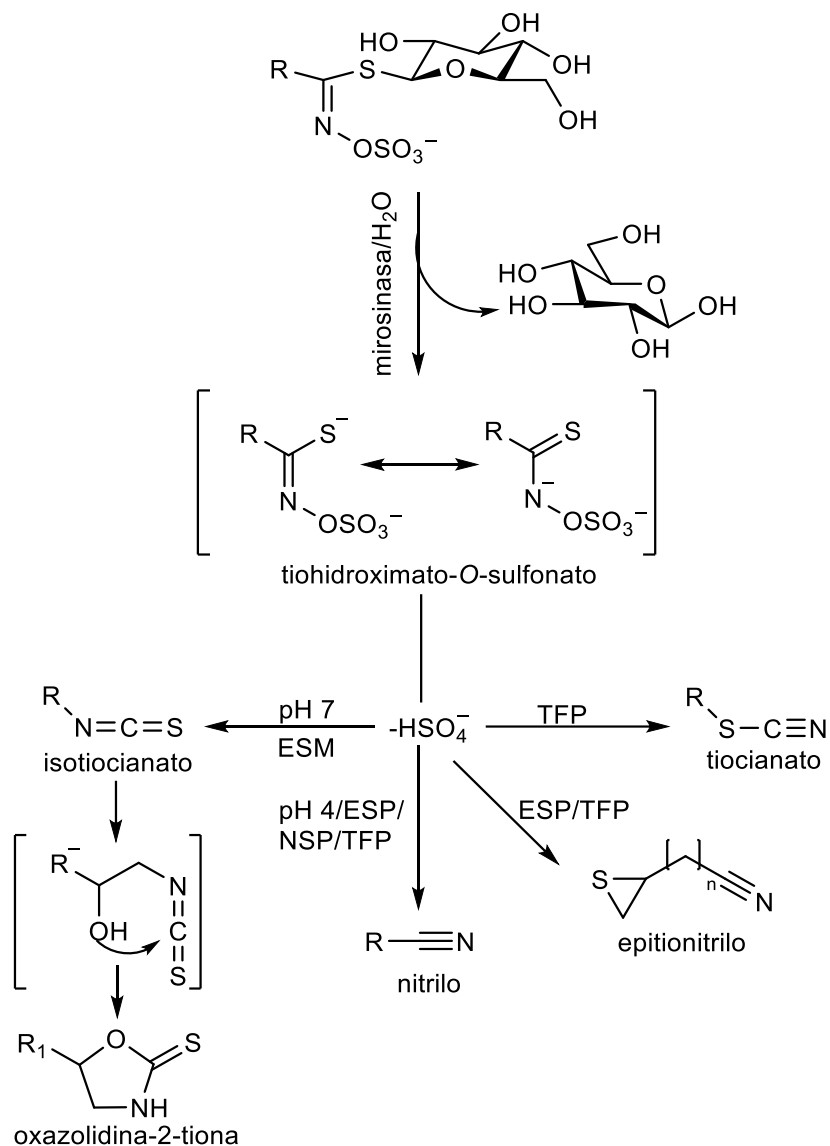


Figura 6. Ejemplo de biosíntesis de Isotiocianatos y su degradación.

En la Figura 6 se observa la formación de los productos de degradación de los glucosinolatos y las condiciones para que estos se lleven a cabo, los productos más estudiados debido a sus actividades anticancerígenas, antioxidantes, antimicrobianas y antifúngicas son los isotiocianatos, en especial el sulforafano, formado a partir del glucosinolato glucorafanina, el cual se ha demostrado que posee un alta actividad anticancerígena.⁵⁶ Este actúa como un inductor natural de la

proteína Nrf2 tanto en humanos como en animales para desintoxicar las sustancias químicas que producen el cáncer.²

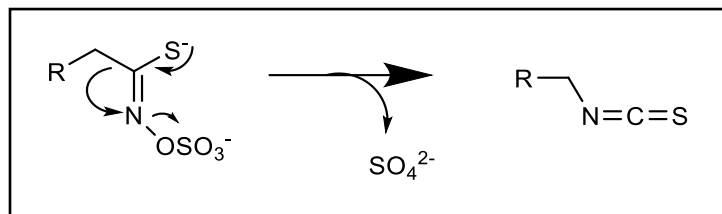


Figura 7. Reordenamiento de Lossen.

El sulforafano se forma a partir de la que la glucona sufre un reordenamiento de Lossen como se muestra en la Figura 7; sin embargo, dependiendo de las condiciones de la planta, pueden descomponerse en nitrilos o azufre molecular, en este caso tener un pH neutro o bajo inhiben al reordenamiento de Lossen mientras que un pH ácido inhibe la formación de nitrilos. Las proteínas específicas modulan esta producción, la proteína epitioespecificadora (ESP), proteínas especificadoras de nitrilo (NSP), la proteína formadora de tiocianato, al interactuar con el aglucon favorecen la producción de nitrilos, por otro lado, la proteína modificadora del epitioespecificador (ESM) favorece la formación de isotiocianatos.⁵⁷

2.2. Cáncer y quimioprevención

El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo, se asocia a una producción desencadenada de las células que sobrepasa el número de células normales, este puede originarse en cualquier parte del organismo, como tejidos, huesos, sangre, al igual de extenderse a otras partes del cuerpo lo cual se le conoce como metástasis.⁵⁸ El cáncer se puede evitar o disminuir el factor de riesgo si este es detectado a tiempo y se establece un tratamiento adecuado al paciente.⁵⁹

En el 2020 se registraron casi 20 millones de casos, siendo el cáncer de seno el más frecuente con 2:26 millones según la OMS como se muestra en la siguiente Figura1.^{59,60}

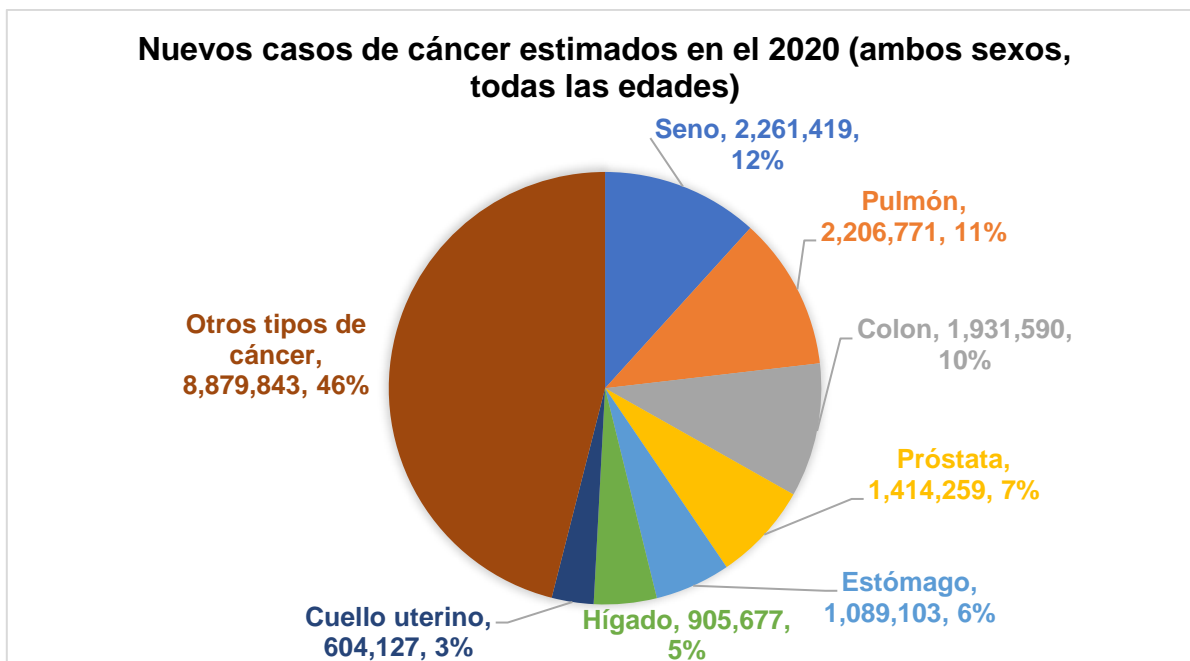


Figura 8. Nuevos casos de cáncer estimados en el 2020.⁵⁹

En México el cáncer es la tercera causa de muerte solo en el año 2020 se registraron 1,086,743 defunciones de los cuales el 8% corresponde a tumores malignos según estadísticas, también se demostró que de estos fallecimientos el 51% corresponde a mujeres mientras que el 41% a hombres.⁶¹

Entre las mujeres de 30 a 59 años las principales causas de defunciones fueron por tumor maligno en seno y en cuello uterino, con tasas de 1.56 y 0.86 defunciones por cada 10 mil mujeres respectivamente.⁶¹

Cáncer Cervicouterino

En México solo de cáncer cervicouterino se detectan aproximadamente 4500 defunciones al año, según el Instituto de Salud del Estado de México, por lo que se estima que cada dos horas fallece una mujer de esta enfermedad presentando así una problemática en el país.⁶²

El cáncer cervicouterino se origina en las paredes del cuello uterino debido al cambio de células que proliferan, es una mutación celular de la unión escamo columnar en el epitelio del cuello uterino, este se manifiesta inicialmente como

lesiones que posteriormente evolucionan en etapas de displasia, como consecuencia afecta la función reproductiva de las mujeres.⁶²

La acción primaria para prevenir el cáncer cervicouterino es por inmunización del VPH con ayuda de una vacuna tetravalente contra genotipos 6, 11, 16 y 18 y bivalente contra genotipos 16 y 18, se recomienda ser aplicada a mujeres de entre 9 y 13 años. Por otro lado, también se recomienda realizar el examen Papanicolau anualmente, al igual que la prueba de VPH para su temprana detección.⁶³ Existen varios factores por los cuales una persona puede desarrollar esta enfermedad, pueden ser ambientales o genéticas por lo cual también existen tratamientos para prevenir o atacar el cáncer, el tratamiento aplicado depende del grado de desarrollo de la metástasis, en la siguiente tabla se enlistan algunos factores de riesgo y tratamientos (Tabla 5).

Tabla 5. Factores de riesgo y tratamiento para el cáncer cervicouterino.^{64,65}

Factores de riesgo
<ul style="list-style-type: none">•Infección por virus de papiloma humano (VPH).•Tabaquismo.•Tener un sistema inmunitario débil o comprometido.•Infección por clamidia.•Uso prolongado de anticonceptivos orales.•Tener muchos embarazos a término.•Dieta pobre en frutas y verduras.•Antecedentes familiares de cáncer de cuello uterino.
Tratamiento
<ul style="list-style-type: none">•Cirugía: donde se pretende extirpar del cáncer•Radioterapia: radiación para destruir las células cancerosas impidiendo su proliferación.•Quimioterapia: interrupción de formación de las células.•Terapia dirigida: identifican y atacan las células cancerosas específicas•Inmunoterapia: impulsar, restaurar y dirigir las defensas del cuerpo contra el cáncer.

Existen otros tratamientos que se están probando en ensayos clínicos, por lo tanto, se siguen buscando tratamientos que puedan combatir este tipo de cáncer sin ser tan agresivo con el receptor, algunas veces se ha demostrado que el tratamiento del ensayo clínico es más eficiente que el estándar por lo que este se convierte en el tratamiento estándar para el paciente.⁶⁵

Quimioprevención

Debido al aumento de cifras de deceso atribuidos a enfermedades autoinmunes como el cáncer, se han realizado varias estrategias para su prevención. La quimioprevención es una de estas estrategias y se define como; “El uso de agentes naturales, sintéticos, o biológicos para revertir, suprimir, o prevenir las fases iniciales de la carcinogénesis o la propagación de las células premalignas a la enfermedad invasiva”.⁶⁶ La quimioprevención puede ser primaria (evitar la ocurrencia de la enfermedad), secundaria (evitar progresión de la enfermedad) y terciaria (reintegración del paciente a su ambiente).^{67,68} Uno de los fármacos que funciona como quimiopreventivo más conocido es el tamoxifeno que reduce las probabilidades de que una mujer con alto riesgo desarrolle cáncer de mama, sin embargo, también se ha comprobado que el uso prolongado de estos fármacos puede tener efectos secundarios en el paciente.⁶⁹ Existen compuestos que funcionan como quimiopreventivos menos agresivos ya que se pueden encontrar de forma natural en alimento como: cereales, verduras, algunas frutas entre otros, estos pueden clasificarse en tres grupos según su estructura química: vitaminas, minerales y fitoquímicos, en este último se encuentran los carotenoides, flavonoides, fenoles ácidos, isotiocianatos (ITC's), organosulfurados (OSC's) e indoles como se muestra a continuación en la Tabla 6.⁷⁰

Tabla 6. Clasificación de quimiopreventivos según su estructura química.⁷⁰

Estructura Química	Agente quimiopreventivo	Fuentes
Vitaminas	Vitamina A	Verduras y hortalizas
	Ácido fólico	Verduras y hortalizas
	Vitamina C	Futas y hortalizas
	Vitamina D	Productos lácteos
	Vitamina E	Aceites vegetales
Minerales	Calcio	Productos lácteos y verduras
	Selenio	Frutas, verduras, cereales, carne, pescado
	Hierro	Carnes rojas
	Zinc	Verduras y hortalizas
Fitoquímicos Carotenoides	Lycopeno	Jitomates
	Luteína	Verduras y hortalizas de hojas verde oscuro

	β-caroteno	Verduras naranjas y amarillas
Flavonoides	Genisteína	Soja y productos derivados
	Quercetina	Frutas y verduras
	Rutina	Frutas y verduras
	Silimarina	Cardo marino
	Catequina	Uvas
	Antocianinas	Frutas, verduras y té negro
Fenoles ácidos	Resveratrol	Uvas, vino tinto
	Curcumina	Cúrcuma, curry, mostaza
	Ácido cafeico	Frutas, café, soja
	Ácido Ferúlico	Frutas, soja, arroz
	Galato de epigallocatequina	Té verde
	Ácido clorogénico	Frutas, café, soja
ITC's	Alil isotiocianato	Coles de Bruselas
	2-fenetil isotiocianato	Repollo
	Bencil isotiocianato	Berros
	3-Metil sulfinil propil isotiocianato	Brócoli
	Sulfurafano	Brócoli
OSC's	Sulfuro de Dialilo	Ajo, cebolla
	Alil Mercaptano	Plantas del género Allium
	Trisulfuro de metil alil	Plantas del género Allium
	S-Alil Cisteína	Ajo
Indoles	Indol-3-carbinol	Crucíferas
	Brasinina	Crucíferas

3. JUSTIFICACIÓN

El cáncer es la primera causa de muerte mundial de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, y en mujeres el cáncer cervicouterino se encuentra entre los diez tipos de cánceres más comunes en México y es el segundo más frecuente en mujeres mexicanas, con una incidencia de 4335 muertes por cada 100 000 muertes en 2020. Existen varias estrategias para el control, prevención y disminución de este cáncer; como por ejemplo la alimentación, que ayudan a sobrellevar esta enfermedad, dentro de esta se recomienda la inclusión de antioxidantes y fitonutrientes encontrados principalmente en frutas y verduras.

Dentro de algunos vegetales importantes en la salud y que son considerados alimentos funcionales, se encuentra el brócoli con nombre científico *Brassica oleracea var. italica* el cual además de su importancia de producción en nuestro país, presenta un contenido nutricional importante, rico en vitamina C, calcio y fitoquímicos relevantes como los compuestos fenólicos y glucosinolatos y derivados, con diversas actividades anticancerígenas *in vitro* contra el cáncer de próstata, mama, colon, entre otras, dejando poco explorado cáncer cervicouterino.

Debido a lo antes mencionado, en este trabajo se contempla conocer el contenido fitoquímico del brócoli a partir de un extracto metanólico obtenido por maceración del bagazo de este, además se contempla la evaluación citotóxica *in vitro* del extracto sobre cáncer cervicouterino, con el fin de poder encontrar nuevos candidatos a nutraceuticos con actividad anticancerígena.

4. HIPÓTESIS

El extracto metanólico de bagazo de brócoli contendrá metabolitos secundarios que conllevarán a la actividad citotóxica *in vitro* del extracto en algunas líneas celulares de cáncer.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Conocer el contenido químico y actividad citotóxica *in vitro* del extracto metanólico obtenido del bagazo de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*).

5.2. Objetivos particulares

1. Obtener el extracto metanólico del bagazo de pella de brócoli.
2. Realizar el aislamiento y purificación los compuestos presentes en el extracto mediante cromatografía en columna.
3. Caracterizar los metabolitos secundarios puros mediante técnicas espectroscópicas de RMN 1D y 2D y CG-EM.
4. Evaluar la actividad citotóxica *in vitro* del extracto en cáncer cervicouterino.

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1. Técnicas cromatográficas e instrumentales

a) Cromatografía en Columna

Los metabolitos secundarios puros y en mezcla se obtuvieron a partir de procesos sucesivos de cromatografía en columna abierta (CCA), como fase estacionaria (FE) se utilizó gel de sílice Flash de tamaño de partícula 230-400 (MESH) y gel de sílice malla 70-230, como fase móvil se utilizaron mezclas de disolventes como Hexano, Diclorometano (DCM), Acetato de Etilo (AcOEt) y Metanol (MeOH). Esto con la ayuda de columnas de vidrio con diámetros y alturas de acuerdo con las cantidades a purificar.⁷¹

b) Cromatografía en Capa Fina

Para el monitoreo del fraccionamiento a partir de cromatografía en columna se utilizó la técnica de cromatografía en capa fina (CCF), usando láminas de gel de sílice 60 F₂₅₄ de base de aluminio. Para la purificación de algunos compuestos se llevó a cabo una cromatografía en capa fina preparativa, se utilizó una placa de gel de sílice 60 F₂₅₄ de dimensiones 20x20cm con base de vidrio.

Para la elución se utilizaron mezclas de disolventes como DCM:MeOH, AcOEt:Hexano y AcOEt:MeOH:H₂O. Para la visualización de los compuestos se utilizó una lámpara de luz ultravioleta marca CAMMAG modelo UV Lamp-4 de rango 254-366 nm y para su revelado se utilizó sulfato cérico amoniacal (NH₄)₄Ce(SO₄) al 1% en H₂SO₄ 2N.

c) Resonancia Magnética Nuclear

Para la elucidación estructural de algunos compuestos se usó Resonancia Magnética Nuclear (RMN) con los experimentos de ¹H y ¹³C, así como experimentos de dos dimensiones como HSQC y HMBC. Se utilizó un equipo de RMN JeolECZ 600R de 600 MHz, se usó cloroformo (CDCl₃) y metanol (MeOD) deuterado como disolvente para la preparación de las muestras. Los desplazamientos químicos (δ) están referidos en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) en Hertz

d) Espectroscopia de Infrarrojo

Para la obtención de espectros de IR se utilizó un espectrómetro infrarrojo de transformada de Fourier NICOLET 6700 con un rango espectral de 525 a 4000cm⁻¹.

e) Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas

Para adquirir los espectros de gases-masas se utilizó un cromatógrafo de Gases Agilent Technology 6890 acoplado a un detector de masas 5973N, modo de ionización por impacto electrónico (IE) en un rango de masas entre 50-500 Daltons. Acoplado a la biblioteca del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST por sus siglas en inglés) versión 2.0. Las muestras se prepararon una concentración de 2 mg en 0.5 mL de disolvente (hexano y acetona).

6.2. Cultivo del vegetal

La hortaliza brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) fue cultivada y cosechada en la Universidad Autónoma de Chapingo a cargo del Ing. Raúl Jacinto Mata.

El cultivo del brócoli fue llevado a cabo el 26 de septiembre del 2019 por siembra directa en charolas de poliestireno que contenían 200 cavidades x 25 mL, las semillas se enterraron a 2 cm de profundidad y 0.5 cm de compacta. Una vez que estas comenzaron a germinar se regaron con una solución nutritiva universal de Steiner al 30%, pasadas las 3 semanas se usó la misma solución al 50%. Las plántulas fueron trasplantadas a siembra directa en campo abierto después de 12 días, con una temperatura y precipitación del suelo de 16.03 °C y 49.8 mm. Durante la siembra se les dio los riegos necesarios y se usó Tricoderma como controlador de plagas y enfermedades.

La cosecha se realizó 74 días después de la siembra, como resultado fueron cosechadas pellas jóvenes de 51 cm de altura, 72 cm de ancho y 7 cm de diámetro en cuanto a la inflorescencia del brócoli (Figura 9).



Figura 9. Cosecha de pella de brócoli

6.3. Obtención del extracto

A partir de 6.06 kg de pella de brócoli que corresponde a la flor creciente en el tallo central, se obtuvo el bagazo de este usando un extractor de jugos marca TURMIX. El jugo obtenido se reservó para un proceso de liofilización y no fue utilizado para la presente tesis. El bagazo del brócoli (4.50 kg) se sometió a un proceso de maceración con metanol al 100% por 72 h a temperatura ambiente en un proceso efectuado por triplicado. El disolvente fue retirado por destilación mediante un rotaevaporador a presión reducida obteniéndose 48.2 g de extracto (1.7 % rendimiento).

6.4. Fraccionamiento primario

El primer fraccionamiento del extracto metanólico (48.2 g) se llevó a cabo en una columna de vidrio de 10 cm diámetro. El extracto metanólico se adsorbió en 48 g de gel de sílice malla mientras que la columna se empaco con 200 g de gel de sílice suspendidos en un sistema 100% DCM con el cual se inició la columna,

posteriormente se llevaron a cabo incrementos de polaridad añadiendo MeOH, de acuerdo con lo observado en la CCF (Figura 10). Se recolectaron fracciones de 250 mL que posteriormente se concentraron con ayuda de un rotaevaporador y fueron agrupadas de acuerdo con su similitud en CCF como se describe en la Tabla 7.

Tabla 7. Fraccionamiento primario del extracto

Reuniones	Fracciones	Sistema	Peso (g)	% Rendimiento
DCP-50-01	1	100% DCM	0.04	0.08
DCP-50-02	2-7	100% DCM	0.29	0.60
DCP-50-03	8-9	85:15 DCM:MeOH	2.27	4.71
DCP-50-04	10-26	70:30, 55:45, 40:60 DCM:MeOH 100% MeOH	23.95	49.68
DCP-50-05	15-17	55:45 DCM:MeOH	2.67	5.54

La fracción DCP50-01 (40 mg) se identificó como un sólido marrón el cual fue enviado a Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas (CG-EM), proporciono información metabólica poco valiosa, siendo principalmente contaminantes de ftalatos.

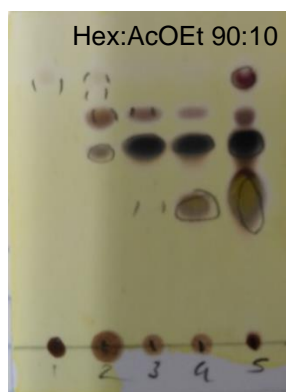


Figura 10. CCF comparativa de las reuniones del fraccionamiento primario

6.5. Cromatografía de la fracción DCP-50-02

Para la purificación DCP50-2 obtenida del fraccionamiento primario (291.7 mg), se empaco una columna de 3 cm de diámetro con 20 g de gel de sílice, suspendida en un sistema 95:5 Hexano:AcOEt con el cual se inició la columna. Se recolectaron fracciones de 15 mL que posteriormente fueron concentradas con

ayuda de un rotaevaporador. El monitoreo de esta columna se realizó en CCF para determinar el aumento de polaridad en el sistema y fueron agrupadas de acuerdo con su similitud en CCF (Tabla 8).

Tabla 8. Fraccionamiento de DCP-50-02

Reuniones	Fracciones	Sistema	Peso (mg)	%Rendimiento
DCP-53-01	1-16	95:5 Hex:AcOEt	33.0	11.31
DCP-53-02	17-20	95:5 Hex:AcOEt	4.0	1.37
DCP-53-03	21-31	95:5 Hex:AcOEt	8.0	2.74
DCP-53-04	32-38	90:10 Hex:AcOEt	4.5	1.54
DCP-53-05	39-81	90:10 Hex:AcOEt 80:20 Hex:AcOEt	33.9	11.62
DCP-53-06	82-98	50:50 Hex:AcOEt	5.0	1.71

La reunión DCP53-01 se analizó por CG-EM pudiéndose identificar 9 ácidos grasos esterificados: 9-oxononanoato de metilo (**1**), éster metílico del ácido pentadecanoico (**2**), éster metílico del ácido hexadecanoico (**3**), éster metílico 14-metil ácido hexadecanoico (**4**), éster metílico del ácido Z-Z-9,12-octadecanóico (**5**), éster metílico de ácido Z-9-octadenanóico (**6**), estearato de metilo (**7**), éster de metilo de ácido nonadecanóico (**8**) y 18-metilnonadecanoato de metilo (**9**).

La reunión DCP53-03 (8.0mg, 2.74%), se apreció en CCF como un compuesto aparentemente puro. Por espectroscopía de RMN, IR y CG-EM se identificó como la fitolexina caulilexina C (**10**).

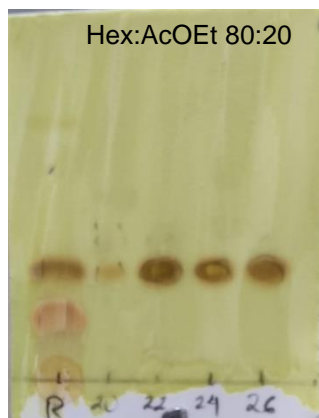
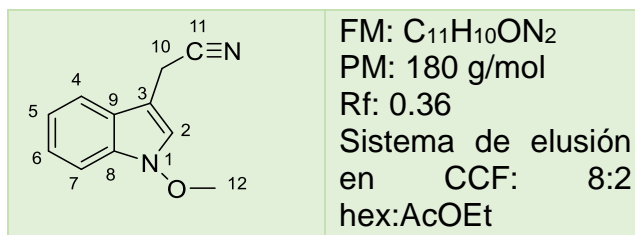


Figura 11. CCF comparativa de recolecciones de DCP53-03



[1-metoxi-1H-indol -3-acetonitrilo (**caulilexina C**); C₁₀H₈N₂O; CI-MS relación masa a carga (m/z):186 g / mol; ATR IR $\nu = 2248.56 \text{ cm}^{-1}$ C≡N] ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃, δ , ppm): 7.56 (ddd, $J = 8.0, 1.92, 0.95 \text{ Hz}$, 1H), 7.45 (ddd, $J = 8.30, 1.81, 0.91 \text{ Hz}$, 1H), 7.31 (m, 2H), 7.18 (ddd, $J = 8.10, 7.0, 1.0 \text{ Hz}$, 1H), 4.07 (s, 3H), 3.80 (d, $J = 1.08 \text{ Hz}$, 2H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃, δ , ppm): 132.51, 123.54, 122.54, 121.94, 120.62, 118.52, 118.06, 108.83, 100.49, 66.93, 14.44 ppm. Los datos de RMN fueron consistentes con los de la literatura.⁷²

La reunión DCP53-05 (8 mg, 2.74 % rendimiento) por espectroscopía de RMN, IR y CG-EM se identificó como como 3-indolacetoniitrilo (**11**)

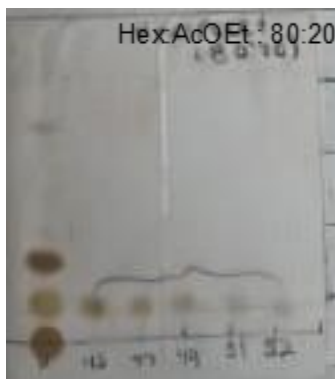
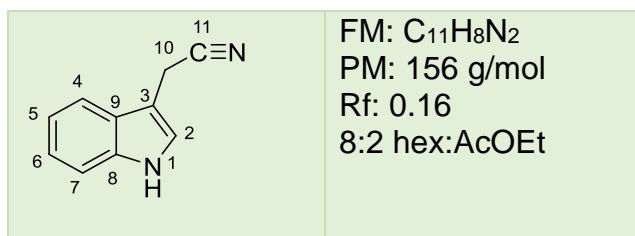


Figura 12. CCF comparativa de recolecciones de DCP53-03



[3-indoleacetonitrile; $C_{10}H_8N_2$; CI-MS relación masa a carga (m/z):156 g / mol; ATR IR $\nu = 3405.09 \text{ cm}^{-1}$ NH; $\nu = 2250.92 \text{ cm}^{-1}$ C \equiv N] ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 8.18 (s,1H), 7.60 (ddd, $J = 8.0, 1.8, 0.9 \text{ Hz}$, 1H), 7.41 (dt, $J = 8.19, 0.9, 0.9\text{Hz}$, 1H), 7.24 (m, 1H), 7.27 (m, 1H), 7.20 (ddd, $J = 7.97, 7.04, 0.98\text{Hz}$, 1H), 3.85 (d, $J = 1.09 \text{ Hz}$, 2H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 136.35, 126.08, 123.03, 122.82, 120.33, 118.23, 118.15, 111.58, 104.91, 14.52 ppm.

6.6. Cromatografía de la fracción DCP-50-03

Para la separación de los componentes de DCP50-03 (2.27 g) se usó una columna de 5.5 cm de diámetro, se empaco con 100 g de gel de sílice flash que posteriormente fue suspendida con un sistema 90:10 Hex:AcOEt correspondiente al sistema de inicio. Para la preparación de la muestra se adsorbió en 4 g de gel de sílice flash. Se recolectaron fracciones de 75 mL cada una que posteriormente fueron concentradas con ayuda de un rotaevaporador. El monitoreo se llevó a cabo por CCF para determinar el incremento de polaridad en el sistema. (Tabla 9)

Tabla 9 Fraccionamiento de DCP-50-03

Reuniones	Fracciones	Sistema	Peso (mg)	% Rendimiento
DCP-55-01	1-4	90:10 Hex:AcOEt	12.0	0.53
DCP-55-02	5-17	85:15 Hex:AcOEt 90:10 Hex:AcOEt	107.2	4.72
DCP-55-03	18-48	83:17 Hex:AcOEt 80:20 Hex:AcOEt	317.7	14.00
DCP-55-04	49-62	80:20 Hex:AcOEt 77:23 Hex:AcOEt	26.9	1.18
DCP-55-05	63-71	70:30 Hex:AcOEt	283.6	12.50
DCP-55-06	72-94	40:60 Hex:AcOEt	40.6	1.79
DCP-55-07	95-115	100 AcOEt	245.3	10.81

La fracción DCP55-02 (107.2 mg) se analizó por CG-EM y ^1H RMN, identificándose como ácido hexadecanoico (**12**).

La fracción DCP-55-03 se recromatografió con gradiente de disolvente 100:00→60:40 hexano:AcOEt para obtener 6 subfracciones (DCP56-01- DCP56-06), obteniéndose nuevamente **12**, además del éster del ácido bis-(2-etilhexil) (**13**).

La fracción DCP-55-04 se analizó por CG-EM identificándose también como **12**.

La fracción DCP-55-06 se recromatografió con gradiente de disolvente 100:00→60:40 hexano:AcOEt, obteniéndose 3 fracciones (DCP59-1, DCP59-2, DCP59-3).

La fracción 2 (DCP59-2) se purificó por placa preparativa de gel de sílice 60 F₂₅₄ de 20x20 cm por 5 mm de grosor con base de vidrio. Se trazó un canal en la placa de 1 cm donde se aplicaron los 41.5 mg de muestra diluida en MeOH.

Posteriormente se saturó la cámara de elusión con un sistema 70:30 Hex:AcOEt, sistema con el cual se eluyó la placa 8 veces, de acuerdo a lo que se observó en la Lámpara UV se determinó un cambio de sistema y se aumentó la polaridad al cambiar a un sistema 60:40 Hex:AcOEt donde se procedió a eluir 3 veces más.

Para su recuperación se raspó el gel de sílice con ayuda de una espátula los compuestos de interés, se agregó en un matraz y se le adicionó AcOEt, posteriormente se agitó por 15 min y posteriormente con ayuda de una jeringa se retiró el disolvente para su filtración, este proceso se realizó por triplicado para cada una de las muestras. Para su filtración se usó un acrodisco (Nylon 13mm 0.45 µm) y se concentró con ayuda de un rotaevaporador.

Como resultado se obtuvo un compuesto aparentemente puro, se le dio el código de MAM08-11 y se obtuvieron 7 mg para obtener el éster del ácido Hexadecanoico-2-hidroxi-1-(hidroximetil)etil (**14**), identificado con el experimento de CG-EM.

6.7. Cromatografía de la fracción DCP-50-04

Para la separación de compuestos de la fracción DCP-50-04 (23.95 g) se procedió a realizar una extracción líquido-líquido en un embudo de separación de 1 L, se disolvió la muestra en 150 mL de un sistema 90:10 MeOH:H₂O (fase hidroalcohólica), se procedió a adicionar la muestra preparada al embudo de separación agregando 145 mL de hexano (fase orgánica). Se agitó el embudo para permitir la transferencia de componentes liberando presión y se recolectó la

fase orgánica, este proceso se llevó a cabo 4 veces (Figura 13). Por último, se procedió a concentrar la fase hexánica de la extracción con ayuda de un rotaevaporador y se aplicó por CCF para analizarla.

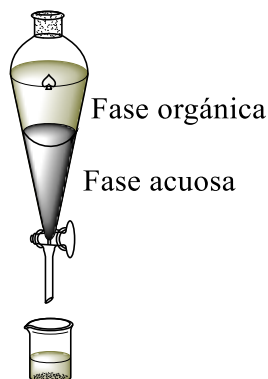


Figura 13. Extracción líquido-líquido de fracción DCP-50-04

La fase hexánica (343.6 mg) se sometió a purificación por CC con gradiente de disolvente 100:00→85:15 DCM:MeOH para obtener DCP61-1, DCP61-2, DCP61-3, DCP61-4. La fracción DCP61-1 (21.3 mg) se purificó por cromatografía en capa fina una placa de gel de sílice 60 F₂₅₄ de 20x20 cm por 1 mm de grosor con base de aluminio. Se trazó un canal en la placa de 1 cm donde se aplicaron los 21.4 mg de muestra diluida en AcOEt. Posteriormente se saturó la cámara de elusión con un sistema 95:5 Hex:AcOEt con el cual se eluyó la placa 2 veces. Se rasparon los dos compuestos de interés y se extrajeron con 10 mL de AcOEt en agitación por 15 min y posteriormente se filtraron (acrodisco nylon 0.45 µm) para obtener DCP62-1 (2 mg) y DCP62-2 (4.8 mg).

Ambas muestras se analizaron por CG-EM identificándose para 62-1 éster del ácido hexadecanoico, además de un derivado de benzamina y para 62-2 éster del ácido hexadecanoico, éster del ácido octadecanoico y éster del ácido 9-Z-octadecanoicoestearato de metilo.

6.8 Actividad anticancerígena *in vitro*

La evaluación *in vitro* se realizó bajo la colaboración de la Dra. Leticia González Maya de la Facultad de Farmacia-UAEM y el apoyo técnico de la M.C. Araceli Guerrero Alonso del CIQ-UAEM. Se evaluó el extracto metanólico de bagazo de

pellas de brócoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) en tres líneas celulares de cáncer humano: PC3 (próstata), Hep3B (hígado) y HeLa (cervicouterino), obtenidas de ATCC (American Type Culture Collection, Manassas, VA, EE. UU.). Las células PC3 se cultivaron en medio RPMI-1640 (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.), mientras que las Hep3B y HeLa en medio DMEM (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, EE. UU.), se suplementaron con suero fetal bovino al 10 % (SFB, Invitrogen) y con 2 mM glutamina, todos los cultivos se incubaron a 37 °C en una atmósfera de 5 % de CO₂. Se cultivaron 3000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos para iniciar la evaluación biológica.

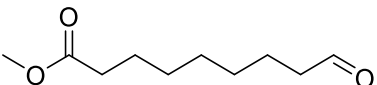
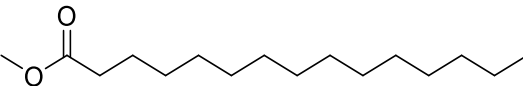
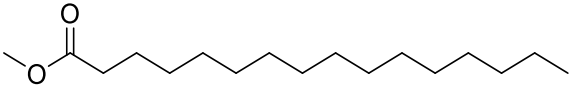
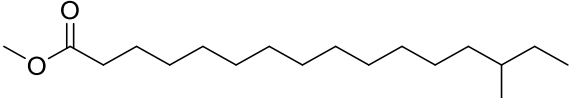
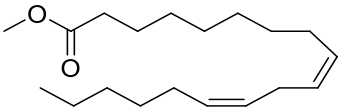
El extracto se ensayó a una sola concentración de 100 µg/mL en DMSO, como control positivo se utilizó paclitaxel (Taxol): HeLa IC₅₀ 5.6 nM, Hep3B IC₅₀ 38.6 nM, PC3 IC₅₀ 12 nM. El número de células viables en proliferación se llevó a cabo utilizando el kit de ensayo de proliferación celular en una solución acuosa CellTiter 96® (Promega, Madison, WI, EE. UU.), siguiendo las instrucciones del fabricante. La viabilidad celular se determinó por absorbancia a 450 nm utilizando un lector ELISA automatizado. Los datos se analizaron en el programa estadístico Prism 5.0 y por triplicado.⁷³

7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la Figura 14 podemos observar el trabajo fitoquímico que se realizó del extracto metanólico correspondiente al bagazo de brócoli. De acuerdo al esquema se obtuvieron cinco fracciones primarias por CCA. En la presente tesis se llevó a cabo el fraccionamiento y purificación de las fracciones 2, 3, y 4.

Por otro lado, las fracciones menos polares de las columnas de separación posteriores, DCP53-02, DCP57-03, DCP57-04, DCP55-04, DCP60-06, DCP62-02/1, fueron analizadas por CG-EM, en donde se identificaron principalmente ácidos grasos saturados de los cuales fueron; **1-4, 7-9, 12-14, 16** y ácidos grasos insaturados; **5, 6, 15, 17**. El compuesto mayoritario identificado fue el ácido palmítico (ácido hexadecanoico, **12**), estos ácidos son una importante fuente de energía para el organismo y ayudan a en la absorción de las vitaminas liposolubles.

Tabla 10. Compuestos detectados por CG-EM.

Nombre	Estructura	Tr (min)	% área	M ⁺
CG-EM de la fracción DCP53-02				
9-oxononanoato de metilo (1)		13.127	6.74041057	155.2
Hexadecanoato de metilo (2)		17.488	1.59123172	270.3
éster metílico del ácido hexadecanoico (3)		18.566	16.98754	270.3
éster metílico 14-metil ácido hexadecanoico (4)		19.269	3.61906732	284.3
		19.498	1.62342257	
éster metílico del ácido Z-Z-9,12-octadecanoico (5)		20.234	8.3639734	294.3

éster metílico de ácido Z-9-octadenanoico (6)		20.333	10.1294531	296.3
Estearato de metilo (7)		20.497	4.78886888	298.3
éster de metilo de ácido nonadecanoico (8)		21.088	1.25732654	312.3
18-metilnonadecanoato de metilo (9)		22.192	1.71519849	326.3
CG-EM de la fracción DCP57-03				
Ácido hexadecanoico (12)		19.261	58.9032642	256.3
CG-EM de la fracción DCP57-04				
Éster del ácido bis-(2-etilhexil) (13)		22.822	3.01695841	370.2
CG-EM de la fracción DCP55-04				
Ácido hexadecanoico (12)		19.360	63.7505598	256.3
fracción DCP60-06				
Hexadecanoico-2-hidroxi-1-(hidroximetil)etil (14)		24.228	60.276775	371.3
CG-EM de la fracción DCP62-02/1				
Palmitato de metilo (3)		18.546	15.2074187	270.3
Ácido 14-metilhexadecanoico (4)		19.209	2.24316791	284.3



Ácido 9-octadecenoico (Z)-, éster metílico (15)		20.240	3.76536372	296.3
Estearato de metilo (7)		20.444	8.93138697	298.3
Ácido eicosanoico, éster metílico (16)		22.172	2.97141077	326.3
Bencenamina, 4-(1, 1, 3, 3-tetrametilbutil)-N-[4-(1, 1, 3, 3-tetrametilbutil)fenil] (17)		30.481	46.1679106	393.4

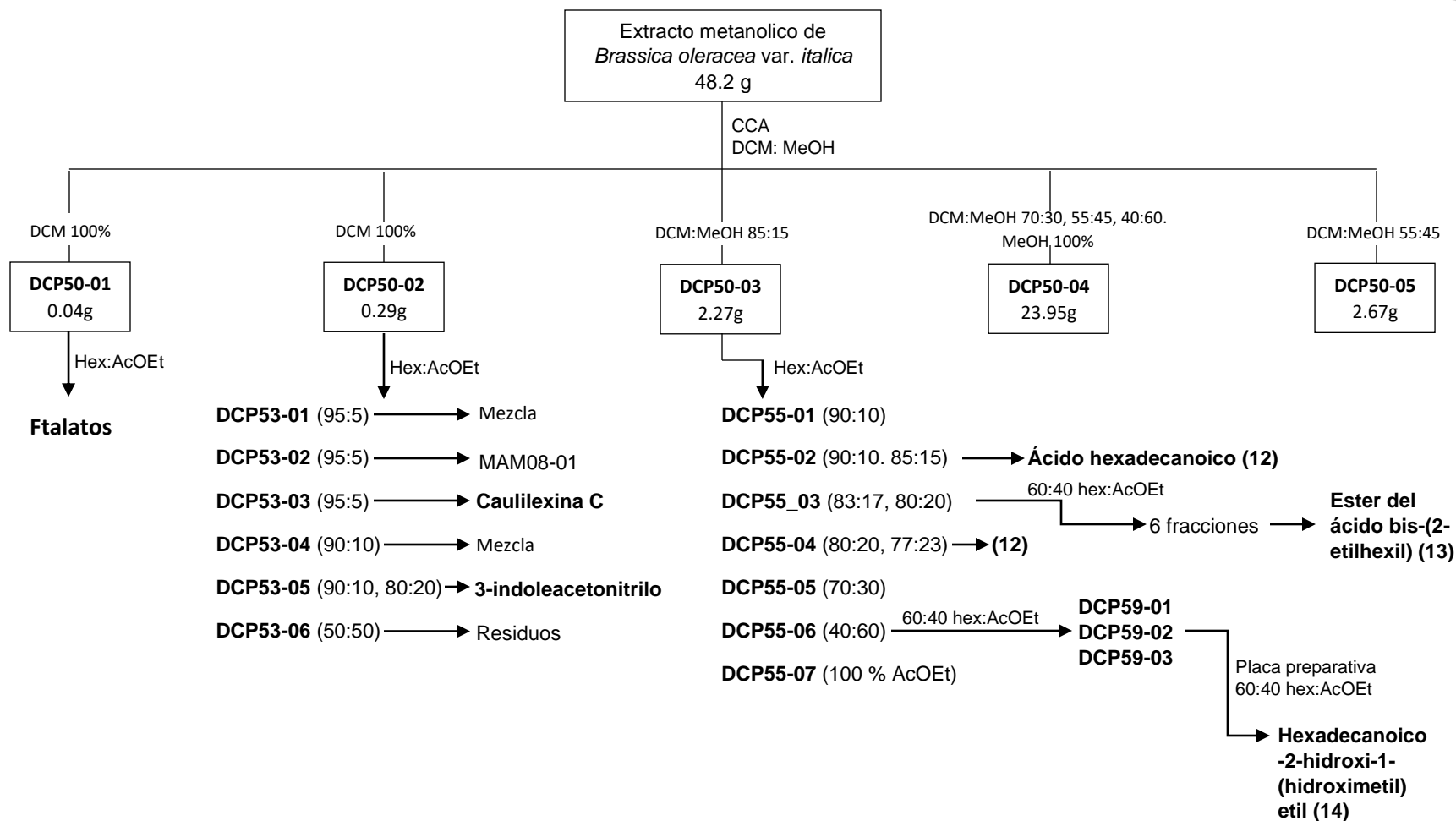


Figura 14. Diagrama general del proceso cromatográfico de purificación. .

7.1. Análisis estructural de la Caulilexina C (DCP53-02)

El compuesto DCP53-03 fue obtenido como un líquido naranja (8 mg) y caracterizado como Caulilexina C (**10**) (1-metoxi-1H-indol-3-acetonitrilo), al ser analizado por IR se observó una banda en 2250.92 cm^{-1} que corresponde a un estiramiento $\text{C}\equiv\text{N}$, lo que indica la presencia de un nitrilo en la molécula. En espectrometría de masas (FAB+) se observa el peso molecular de 154 m/z.

De acuerdo con su espectro de RMN ^1H (Espectro 3) se observan señales en dos regiones, la primera región entre 7.00 a 7.80 ppm que corresponde a la zona aromática y la segunda entre 3.50-4.50 ppm que es característica de dobles enlaces e hidrógenos base de oxígeno.

En la zona de hidrógenos aromáticos se encuentran cinco señales, cuatro señales pertenecen al anillo aromático, todas ellas ddd que integran para un protón: La primera **H7** (7.56 ppm) con constantes de acoplamiento (J) de 8.01, 1.92, 0.95, Hz, **H4** (7.45 ppm) con constantes de acoplamiento (J) de 8.30, 1.81, 0.91 Hz, **H5** (7.17 ppm), $J = 8.1, 7.0, 1.0$ Hz y por último un multiplete en 7.30 ppm asignado a **H6**. Con esto se pudo determinar que **H4** se encuentra en posición *para* con respecto a **H7** ya que comparten una $J = 0.94$. Por otro lado, **H5** comparte con **H4** y con **H6** una $J = 8.01, 7.0$ Hz característica de acoplamiento de tipo *orto* y una J meta que comparte con **H7** lo que completa el sistema de spines de tipo ABXY 1,2 disustituido. (Figura 15).

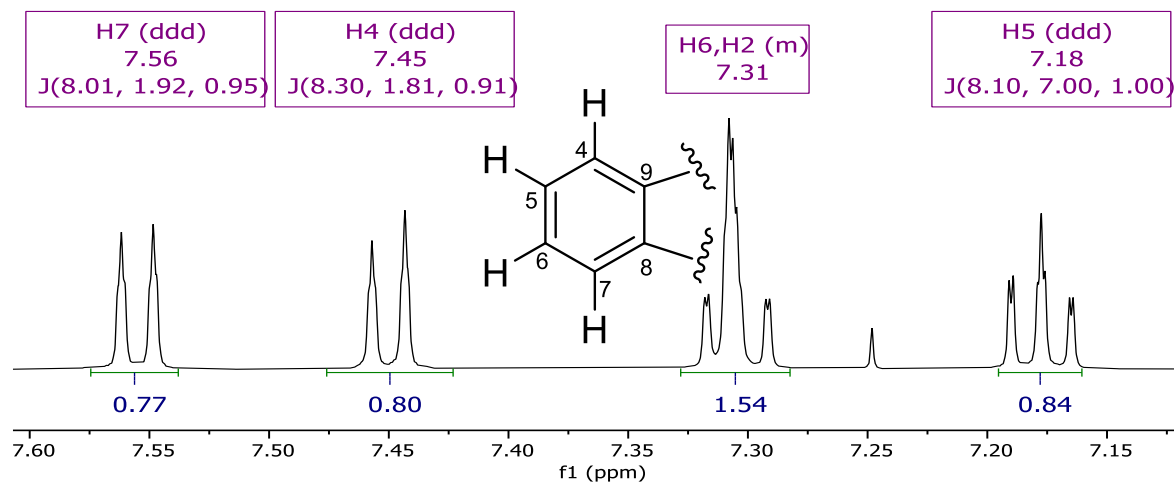


Figura 15. Sistema ABXY 1,2 disustituido para el anillo de la Caulilexina C

La quinta señal se encuentra en 7.31 ppm, que está traslapada con el protón de H6 aromático, podemos deducir que se encuentra sobre un doble enlace dentro de un sistema cíclico asignado como **H2** que integra para un protón con constante de acoplamiento dd de 0.90 Hz que se comparte con **H10**. En la región de frecuencia baja se observan dos señales, la primera una señal simple con un desplazamiento de 4.08 ppm que integra para tres protones correspondiente al metoxilo **H12** de la posición uno. La segunda señal es un doblete que se encuentra en 3.80 ppm que integra para 2 hidrógenos con una $J = 1.08$ que acopla con **H2** (Figura 16).

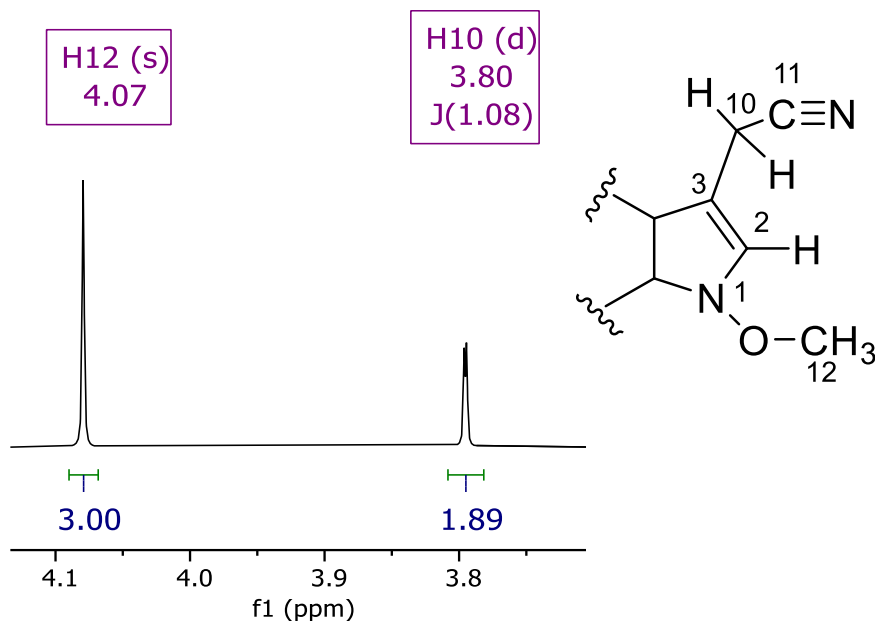


Figura 16. Señales correspondientes a hidrógenos 10 y 12

Respecto a la espectroscopía de ¹³C RMN (Espectro 4), se observaron 11 señales de las cuales 9 de ellas se encuentran en zona de aromáticos, 4 pertenecen a carbonos cuaternarios: 132.51, 122.54, 118.06, 100.49 ppm, y 5 a carbonos metinos 108.83, 123.54, 120.62, 118.52, 121.94 ppm. Para las últimas dos señales, Una de ellas se observa en 66.93 ppm que por desplazamiento químico debe pertenecer al carbono del metoxilo y la segunda señal 14.44 ppm pertenece al carbono del metileno.

En el experimento HSQC (Espectro 6) se confirmaron las correlaciones H-C a un enlace σ . Los hidrógenos del sistema de spines ABMX en 7.49 (H4), 7.18 (H5), 7.31 (H6) y 7.56 ppm (H7) correlacionan con los carbonos situados en 108.82 (C4), 120.62 (C5), 123.54 (C6) y 118.59 ppm (C7) respectivamente, el hidrogeno que se encuentra sobre el doble enlace 7.31 ppm (H2) correlaciona con el carbono 121.94 ppm (C2), por último, los hidrógenos en 4.07 (H12) y 3.08 ppm (H10) correlacionan con los carbonos 66.93 (C12) y 14.44 ppm (C10) (Tabla 11). Estas correlaciones y las posiciones de los carbonos cuaternarios se determinaron con el experimento HMBC que se describe a continuación.

Tabla 11. Correlaciones HSQC

Correlaciones HSQC		
Posición	δ H (ppm)	δ C (ppm)
H2	7.31 (m)	121.94 (CH)
H4	7.56 (ddd, $J=8.01, 1.92, 0.95$ Hz, H)	118.52 (CH)
H5	7.18 (ddd $J=8.10, 7.00, 1.00$ Hz, H)	120.62 (CH)
H6	7.31 (m)	123.54 (CH)
H7	7.45 (ddd, $J= 8.30, 1.81, 0.91$ Hz, H)	108.83 (CH)
H10	3.80 (d, $J=1.08$ Hz, 2H)	14.44 (CH ₂)
H12	4.07 (s, 3H)	66.93 (CH ₃)

En el experimento HMBC (Espectro 7) podemos observar que el hidrogeno **H4** correlaciona con el carbono 122.47 ppm (**C9**) que corresponde a un carbono cuaternario, por otro lado, los hidrógenos a 7.18 (**H5**) y 7.31 (**H6**) ppm correlacionan con los carbonos 108.83 ppm (**C7**) y **C9**, mientras que **H6** solo correlaciona con 132.45 ppm este último carbono cuaternario es asignado con la numeración de **C8**, que es el carbono más desplazado debido a la desprotección que sufre por el nitrógeno adyacente. El hidrogeno en 7.56 ppm (**H4**) presenta tres correlaciones con los carbonos, **C6**, **C9** y con el carbono cuaternario en 100.43 ppm asignado como **C3**, con esto se confirma que estos hidrógenos pertenecientes al sistema ABMX se encuentran cerca uno del otro posicionados en el mismo anillo (Figura 17).

La señal de **H2** se encuentra correlacionando con **C3** y **C10** (14.44 ppm), carbono que pertenece al metileno posicionado en campo alto debido a la desprotección que ejerce el grupo nitrilo adyacente (**C11**). En la zona de baja frecuencia se encuentran dos señales que corresponden al **H10** y al **H12**, el primero correlaciona con los carbonos **C3**, 118.06 (**C11**) y 121.80 ppm correspondiente al carbono de **H2**, por lo que podemos afirmar que este se encuentra fuera del anillo de seis miembros debido a la posición de estos carbonos que correlacionan entre si. Finalmente, **H12** perteneciente al metoxilo, no presenta correlación con ninguna señal por lo que este se encuentra unido al nitrógeno.

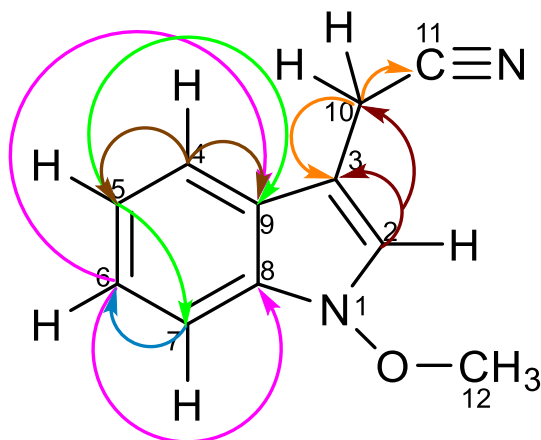


Figura 17. Correlaciones HMBC de Caulilexina C.

Por otro lado, se ha reportado actividad antifúngica de este metabolito junto con las caulilexinas A y B, donde se sometieron a bioensayos frente a 3 tipos de hongos los cuales fueron *Rhizoctonia solani*, *Leptosphaeria maculans* y *Sclerotinia sclerotiorum*, hongos más comunes en plantas *Brassica*. La caulilexina C presentó un porcentaje de inhibición mayor en los dos primeros hongos; 100 ± 0 y 77 ± 2 , respectivamente.⁷⁴

7.2. Análisis estructural del 3-indolacetonitrilo (DCP53-03)

El 3-indolacetonitrilo (**11**) es un metabolito secundario de tipo indólico, tiene la misma estructura a la antes mencionada Caulilexina C; sin embargo, este no contiene un metoxilo extra en la posición 1 de la amina del indol. La espectroscopía del 3-indolacetonitrilo es semejante a Caulilexina C.

De acuerdo con el análisis de IR se observa una banda en 3450cm^{-1} correspondiente al enlace de N-H del indol, también se observan las bandas propias del anillo aromático 1,2 disustituido en un rango de $1700\text{-}1900\text{cm}^{-1}$ y en $700\text{-}800\text{cm}^{-1}$. En el espectro de RMN ^1H (Espectro 10) se observan señales en dos regiones, la primera entre 7.00 a 7.80 ppm que corresponde a la zona aromática y una señal en 3.83 ppm que es característica de dobles enlaces e hidrógenos base de oxígeno. En zona de alta frecuencia se pueden observar 5 señales 7.59, 7.39, 7.25, 7.20 ppm que integran para un protón cada una que corresponden a los protones del sistema ABMX del anillo aromático, mientras que

la quinta señal tiene un desplazamiento de 7.24 ppm, perteneciente al protón sobre el doble enlace del ciclo que completa el indol. En la zona de baja frecuencia se encuentra la señal simple de CH₂ adyacente al grupo ciano con un desplazamiento de 3.83 ppm. Por último, se observa una señal ancha simple en 8.18 ppm perteneciente al protón de la amina secundaria. Lo cual indica a diferencia de la caulilexina C previamente descrita, la ausencia del grupo metoxilo sobre la amina.

De acuerdo con el experimento de ¹³C se pueden observar 10 señales, 5 corresponden a carbonos metinos sp² en 123.06, 122.82, 120.36, 118.2, 111.58 ppm, y 4 a carbonos de tipo sp² en 136.35, 126.08, 104.9 ppm y uno sp en 118.23 ppm correspondiente al nitrilo, mientras que la última señal corresponde al metileno adyacente al grupo ciano en 14.52 ppm.

Se han llevado a cabo estudios que demuestran que este compuesto posee actividad antimicrobiana, al igual se sabe que este compuesto interviene en la síntesis de indol, por lo que puede ser utilizado con un agente terapéutico.^{75,76}

7.3. Efecto antiproliferativo *in vitro*

De acuerdo con datos recopilados en la literatura se sabe que extractos de brotes, inflorescencias y hojas de brócoli, han sido analizados en diversos estudios anticancerígenos a nivel *in vitro*. Estos han sido probados principalmente en cáncer de colon con CI₅₀ 3,88 µg/ml.^{77,78} También se ha probado en células A549 (células de carcinoma de pulmón), HepG2 (células de carcinoma hepatocelular) y Caco-2 (células de adenocarcinoma colorrectal) con valores de CI₅₀ 0,117, 0,168 y 0,189 mg/ml respectivamente.⁷⁷

Por otra parte, los resultados del presente trabajo sobre la evaluación anticancerígena *in vitro* del extracto metanólico del bagazo de brócoli sobre tres líneas celulares: próstata (PC-3), hígado (Hep3B) y cervicouterino (HeLa), mostraron un % de inhibición del 51.5 % en la línea de cáncer cervicouterino, para

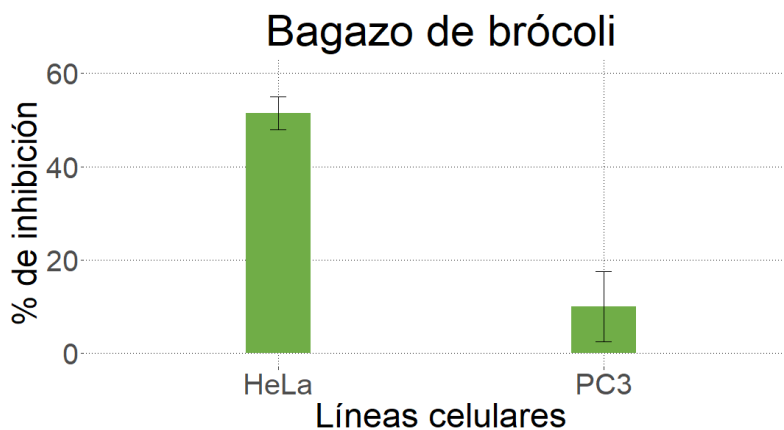
cáncer de próstata hubo solo un 10 % de inhibición y para hepatocarcinoma no hubo inhibición a la concentración ensayada. (Tabla 12).

Líneas celulares

Tratamiento	PC3	Hep3B	HeLa
	Próstata	Hígado	cervicouterino
Extracto MeOH de bagazo de brócoli	10.1± 7.5	ND	51.5 ±3.4

Tabla 12. Porcentaje de actividad inhibitoria del extracto metanólico de *Brassica oleracea*. var. *italica* en diferentes líneas celulares.

De los resultados obtenidos para las distintas líneas celulares es importante destacar que el extracto mostró selectividad sobre la línea celular de HeLa (Figura 18), el cual es de importancia debido a que el cáncer cervicouterino representa la segunda causa de muertes en mujeres en nuestro país, convirtiéndose en un problema de salud de gran importancia,⁶¹ sin embargo, hasta el momento no se había reportado actividad citotóxica de brócoli en este tipo de cáncer, además que a partir del bagazo tampoco se tiene ningún reporte que relacione su contenido químico con algún efecto biológico.



*Control positivo: Taxol: HeLa IC₅₀ 5.6 nM, Hep3B IC₅₀ 38.6 nM, PC3 IC₅₀ 12 nM

Figura 18. Actividad inhibitoria del extracto metanólico del bagazo de *Brassica oleracea*. var *italica* en cáncer cervicouterino (HeLa) y próstata (PC3).

Por otra parte, se tiene conocimiento que los extractos de brócoli son ricos glucosinolatos y derivados, dentro de ellos las fitoalexinas indolicas las cuales han

reportado principalmente actividad antifúngica;⁷⁴ sin embargo, algunas fitoalexinas se han reportado con actividad anticancerígena; por ejemplo, la isobrassinina (1H-indol-3-ilmetil)carbamoditioato de metilo) mostró efecto antiproliferativo sobre las líneas celulares de HeLa, carcinoma de mama (MCF-7) y carcinoma epidermoide (A431) con un porcentaje de inhibición a [30 μ M] de 83.6 ± 1.9 , 86.2 ± 1.8 , 78.6 ± 7.0 respectivamente⁷⁹, al igual la fitoalexina 1-Metoxibrasinina mostró efecto citotóxico sobre la línea celular de leucemia humana aguda linfoblástica T (Jurkat) con un $CI_{50} = 10 \mu\text{mol/L}$.⁸⁰

Finalmente, Guerrero et al. 2023, probó la actividad citotóxica de caulilexina C (**10**) e índol 3-acetonitrilo (**11**) en líneas de cáncer cervicouterino (HeLa) con un resultado de CI_{50} 23.43 ± 2.44 y $33.65 \pm 1.68 \mu\text{g} / \text{mL}$, siendo la primera vez que se reporta activada citotóxica para dichas fitoalexinas.⁷³

8. CONCLUSIONES

En este proyecto se llevó a cabo un estudio fitoquímico del extracto metanólico a partir del bagazo de brócoli, dicho método de extracción es el primer reporte hasta el momento, lo cual aporta una alternativa de método de extracción para la búsqueda de nuevos metabolitos.

Primeramente, al extracto se le evaluó su actividad citotóxica *in vitro* en tres líneas celulares próstata (PC3), hígado (Hep3B) y cervicouterino (HeLa), el cual mostró selectividad sobre el cáncer cervicouterino con un porcentaje de inhibición del 51.1%; por lo tanto, se puede sugerir al extracto para posteriores estudios anticancerígenos relacionados con este tipo de cáncer de importancia en las mujeres.

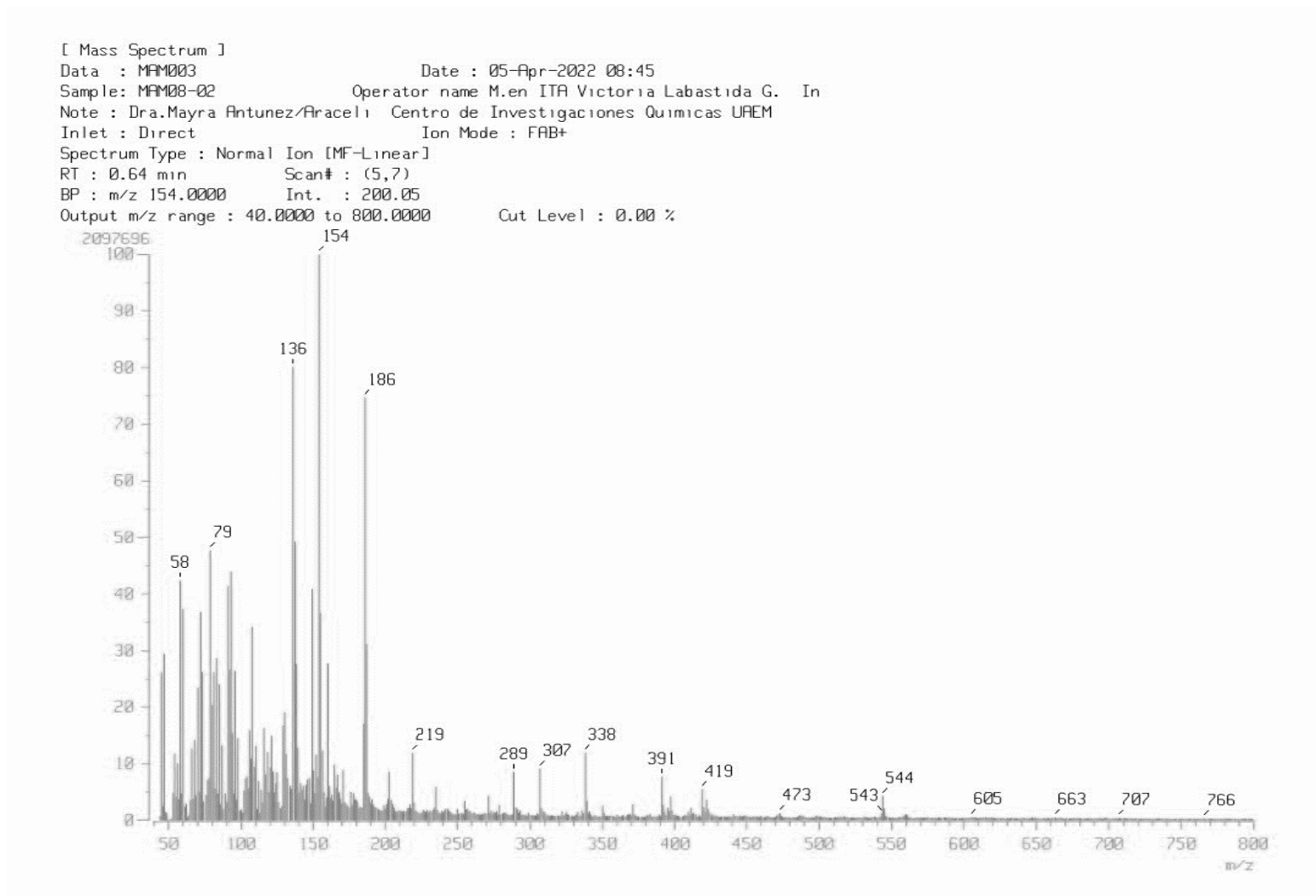
Por otro lado, se lograron identificar 17 compuestos, principalmente ácidos grasos saturados los cuales corresponden: **1-4, 7-9,12-14,16**, siendo los mayoritarios el ácido palmítico (**12**), éster metílico del ácido hexadecanoico (**3**) y hexadecanoico-2-hidroxi-1-(hidroximetil)etil (**14**), al igual que ácidos grasos insaturados **5,6,15,17**, de los cuales presentó mayor abundancia bencenamina, 4-(1, 1, 3, 3-tetrametilbutil)-N-[4-(1, 1, 3, 3-tetrametilbutil)fenil] (**17**).

Por último, se logró aislar y caracterizar la fitoalexina Caulilexina C y el 1-indolacetonitrilo ambos con un rendimiento de 2.74%, la CI_{50} reportada por nuestro grupo de investigación fue de 23.43 ± 2.44 y 33.65 ± 1.68 $\mu\text{g} / \text{mL}$ respectivamente.

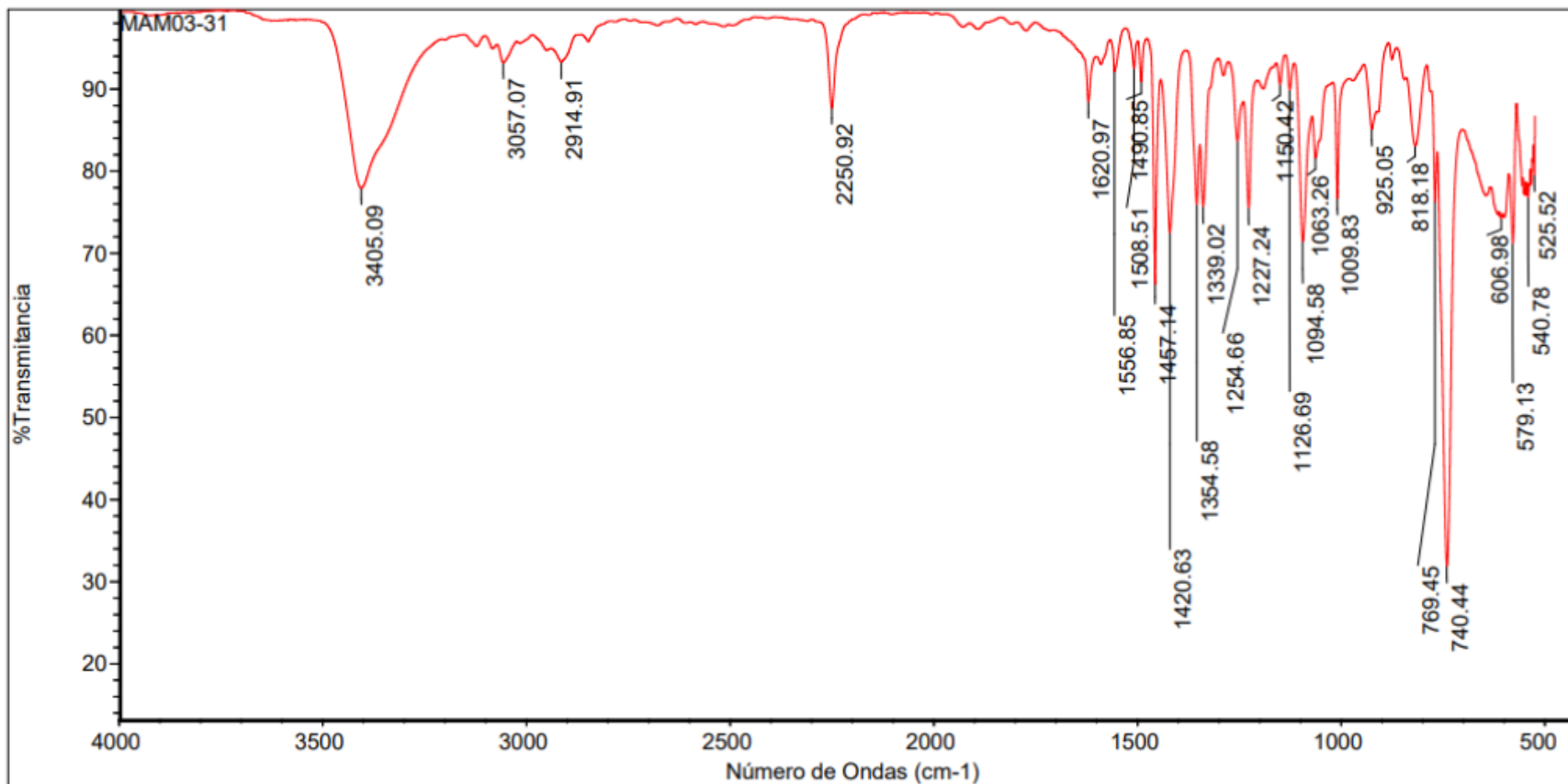
9. PERSPECTIVAS

- Continuar con la purificación de las fracciones más polares.
- Evaluar la actividad anticancerígena *in vitro* en diferentes líneas celulares de los compuestos puros.
- Llevar a cabo evaluación antioxidante y prebiótica para proponer al brocoli como nutraceutico

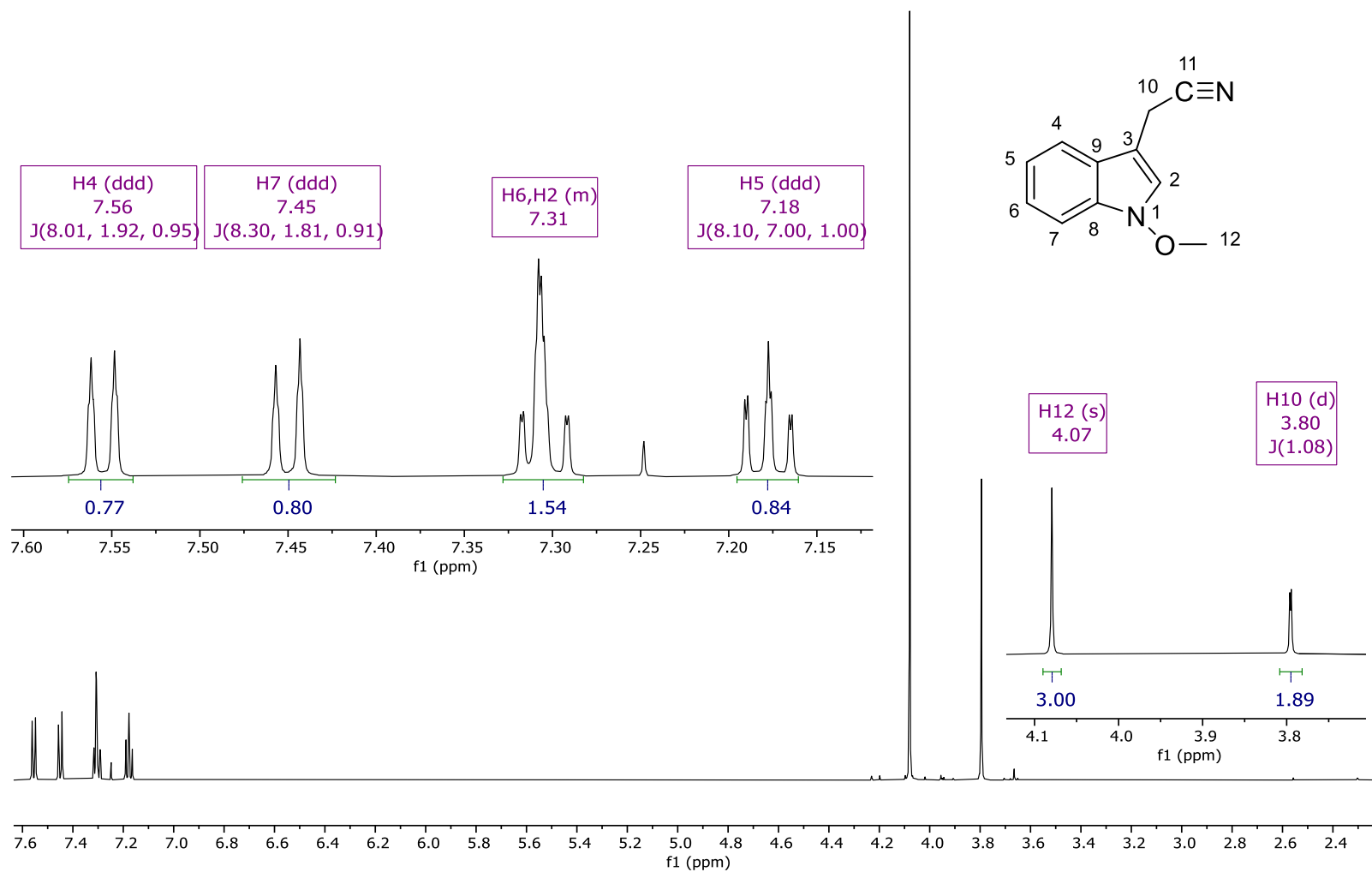
10. ANEXOS



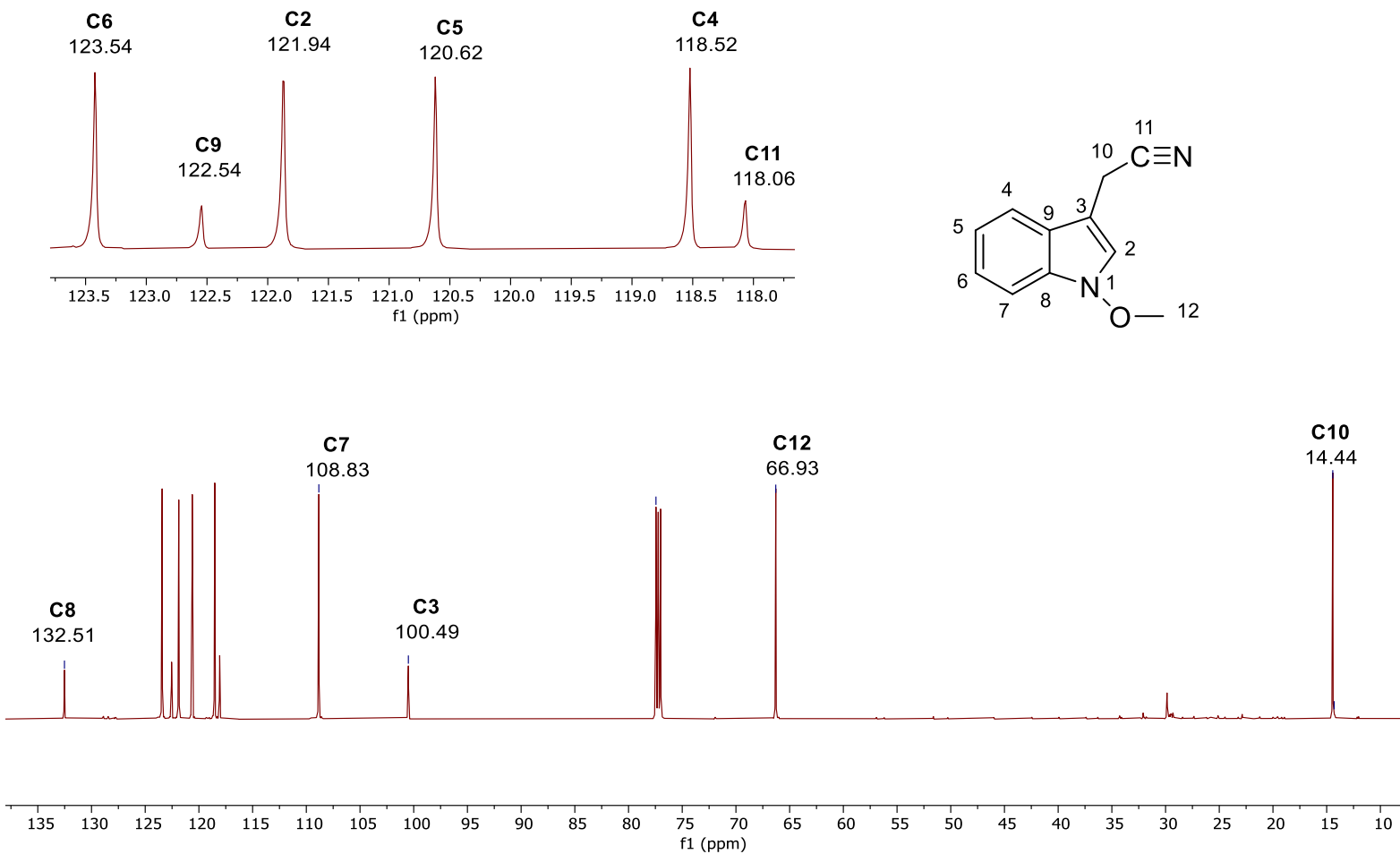
Espectro 1. CG-EM (Ion mode: FAB+) de Caulilexina C (10)



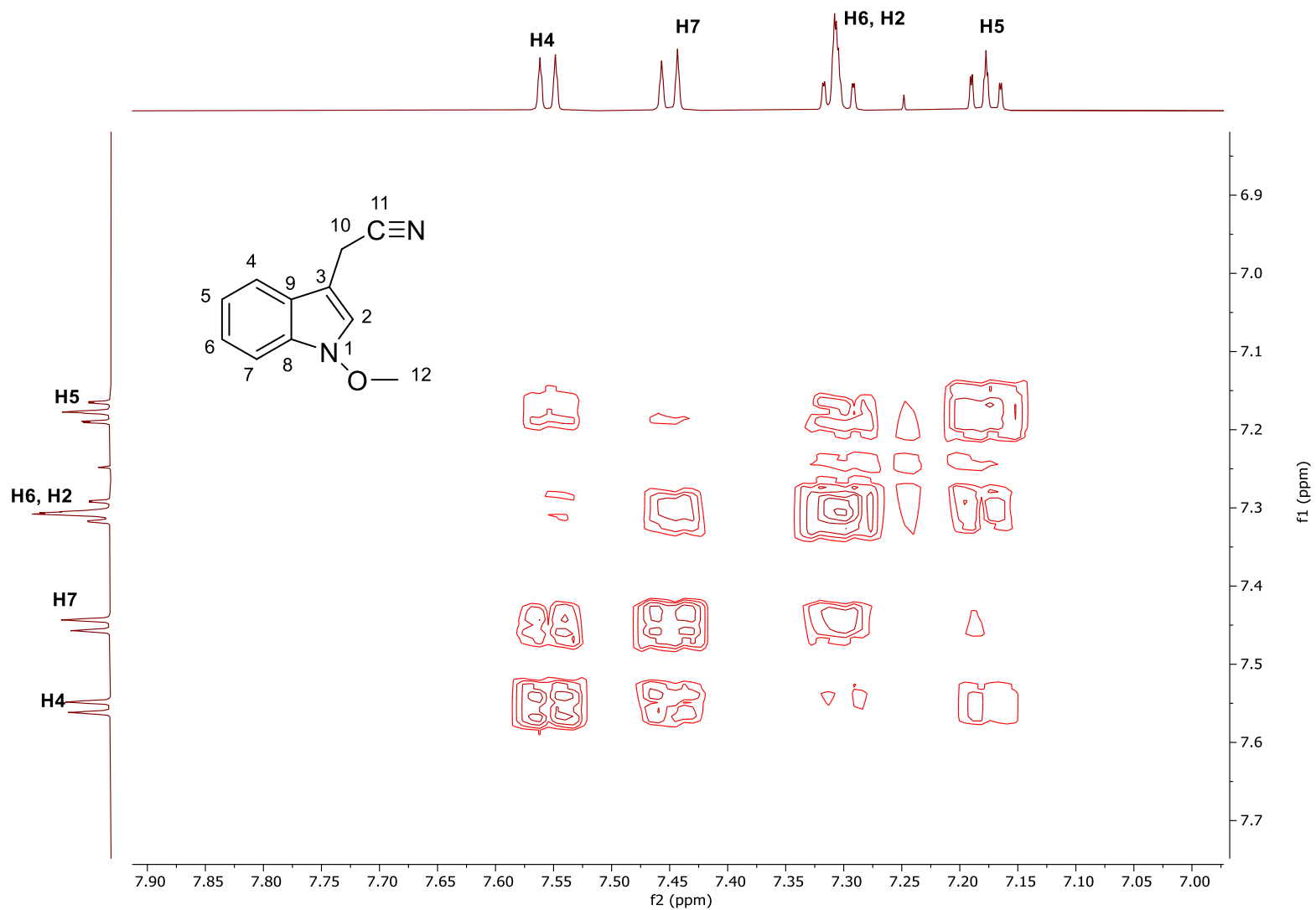
Espectro 2. IR de Caulilexina C (10)



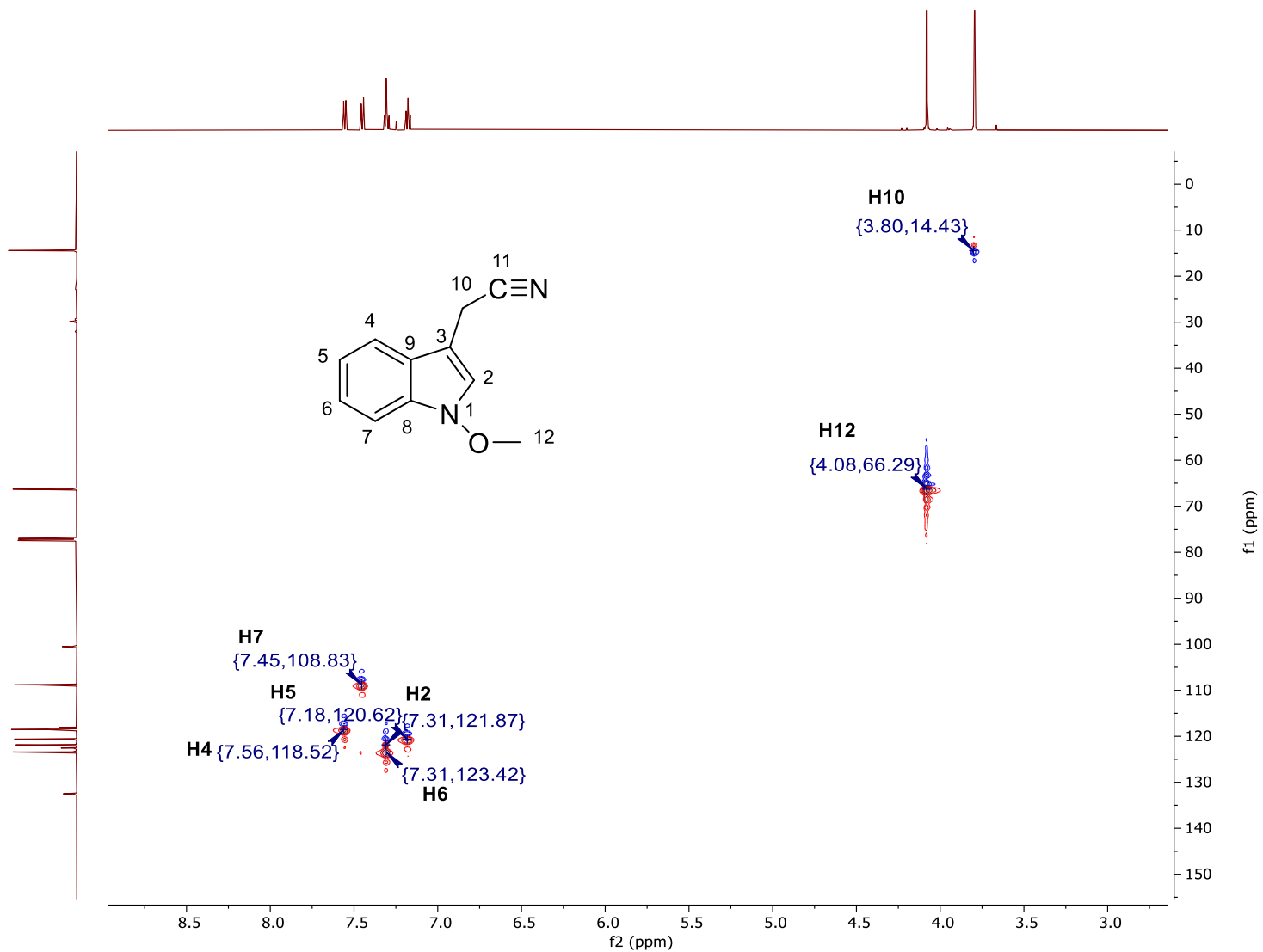
Espectro 3. RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz) de caulilexina C (10).



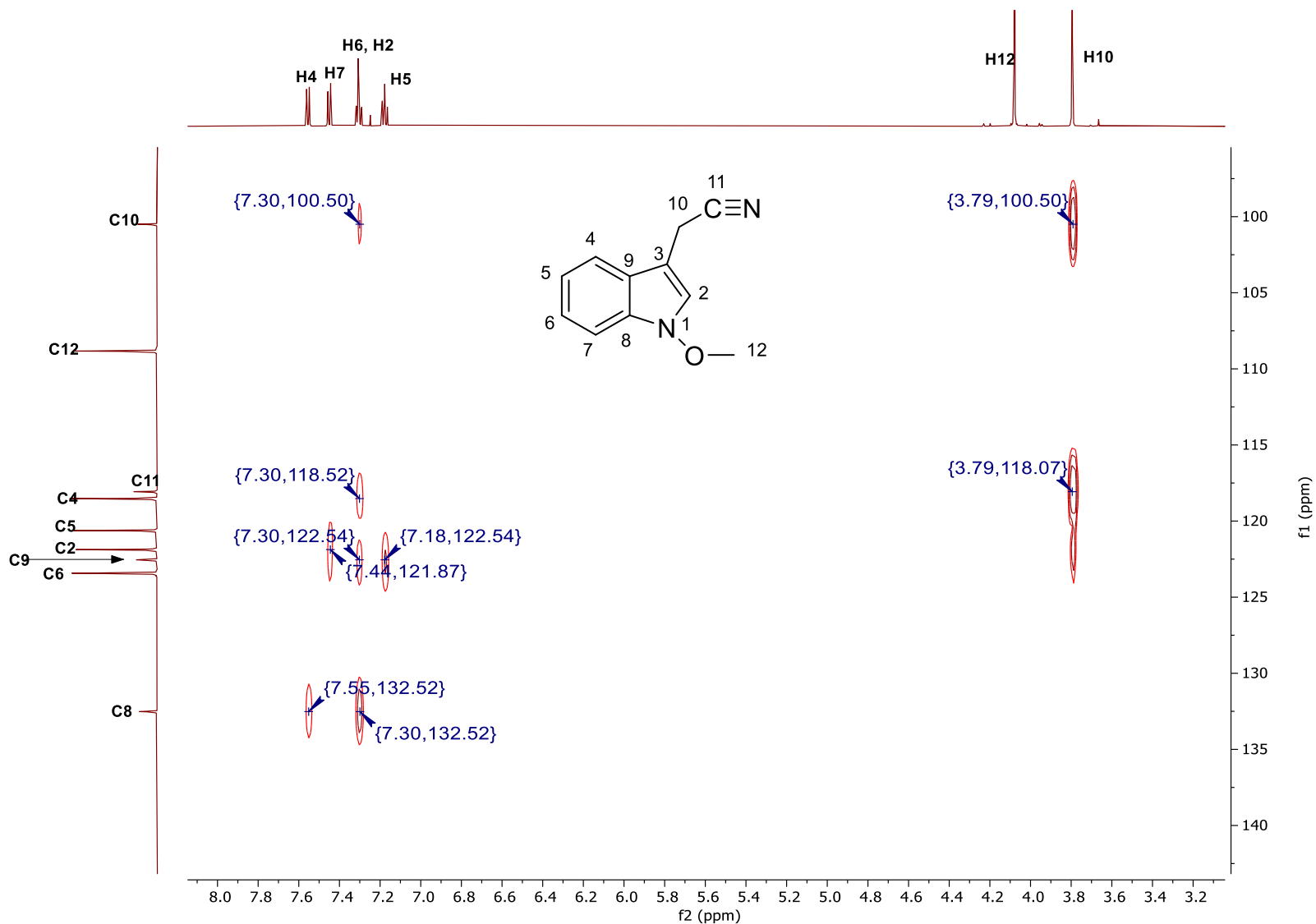
Espectro 4. RMN ¹³C (CDCl₃, 150 MHz) de caulilexina C (10)



Espectro 5. RMN COSY (CDCl₃, 600 MHz) de caulilexina C (10)

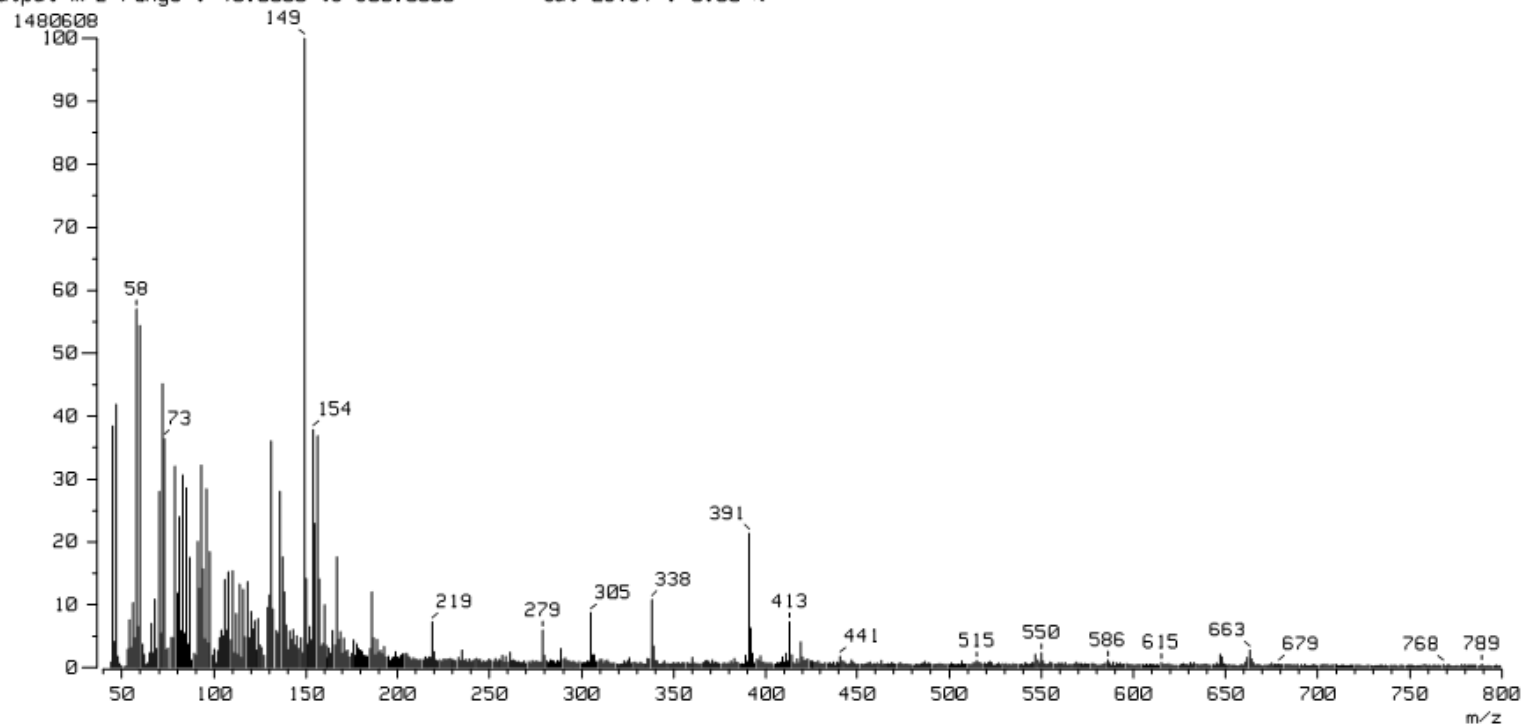


Espectro 6. RMN HSQC (CDCl₃, 600 MHz) de caulilexina C (10)

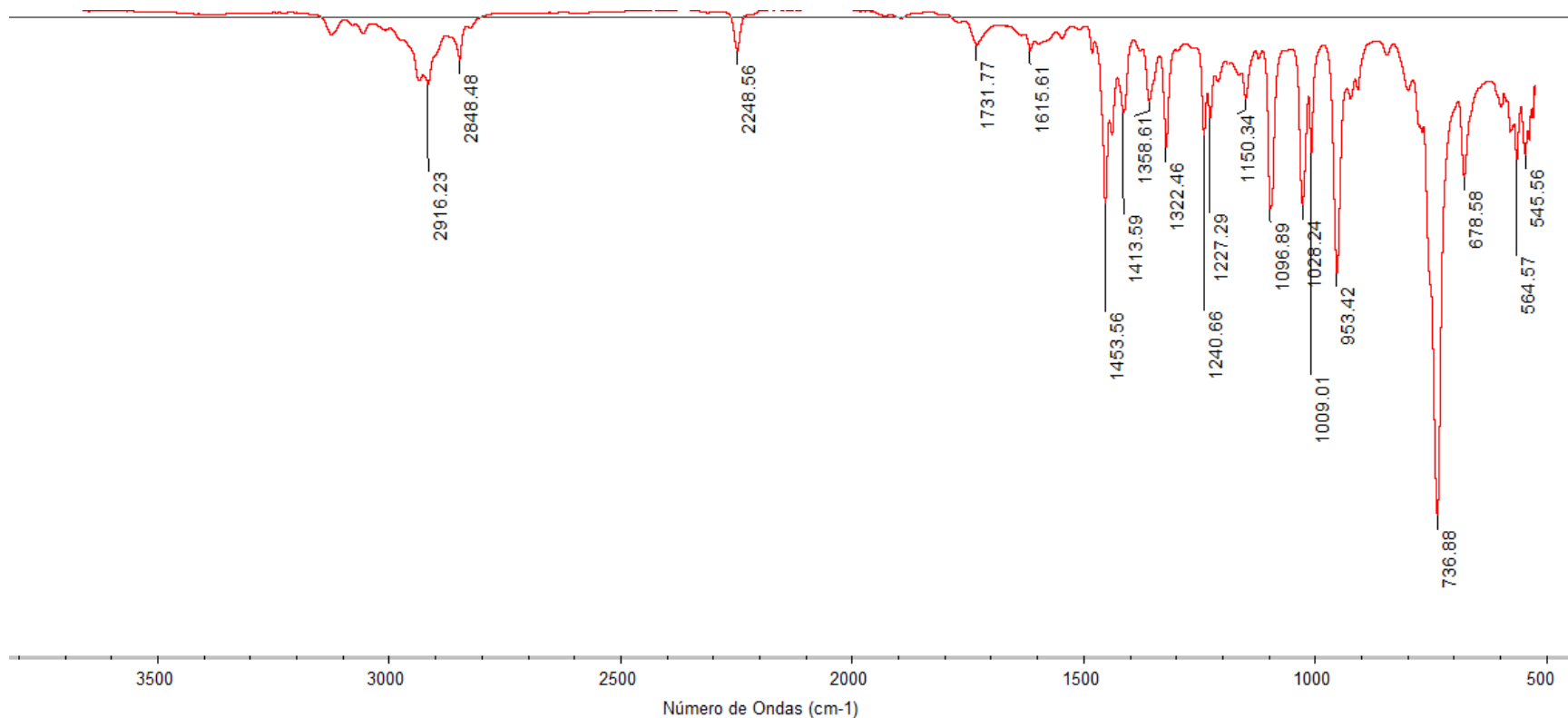


Espectro 7. RMN HMBC (CDCl₃, 600 MHz) de caulilexina C (10)

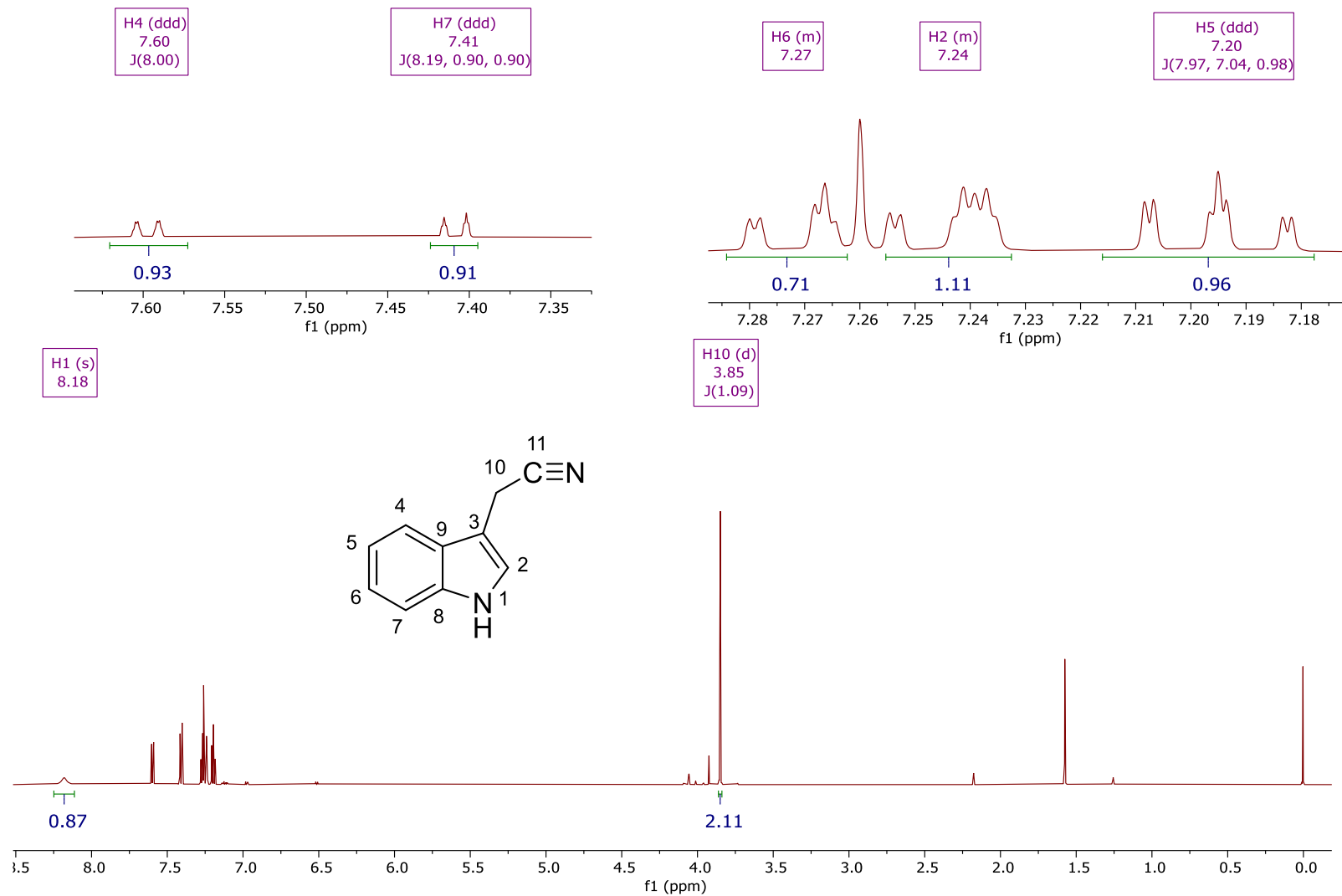
[Mass Spectrum]
Data : MFM004 Date : 05-Apr-2022 08:49
Sample: MFM08-03 Operator name M.en ITA Victoria Labastida G. In
Note : Dra.Mayra Antunez/Araceli Centro de Investigaciones Químicas UAEM
Inlet : Direct Ion Mode : FAB+
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
RT : 0.26 min Scan# : 3
BP : m/z 149.0000 Int. : 141.20
Output m/z range : 40.0000 to 800.0000 Cut Level : 0.00 %



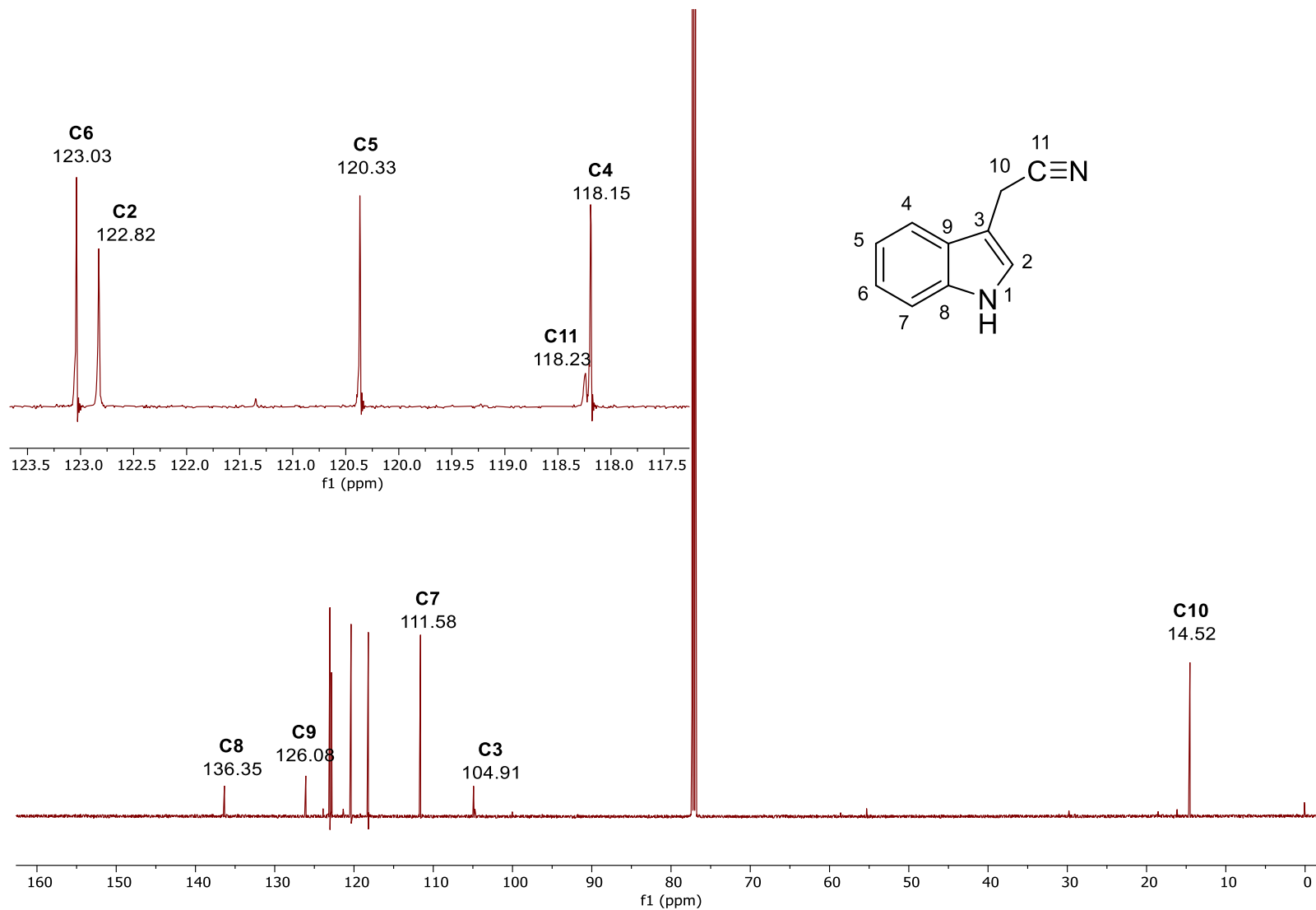
Espectro 8. CG-EM (Ion mode: FAB+) de 3-indolacetonitrilo (11).



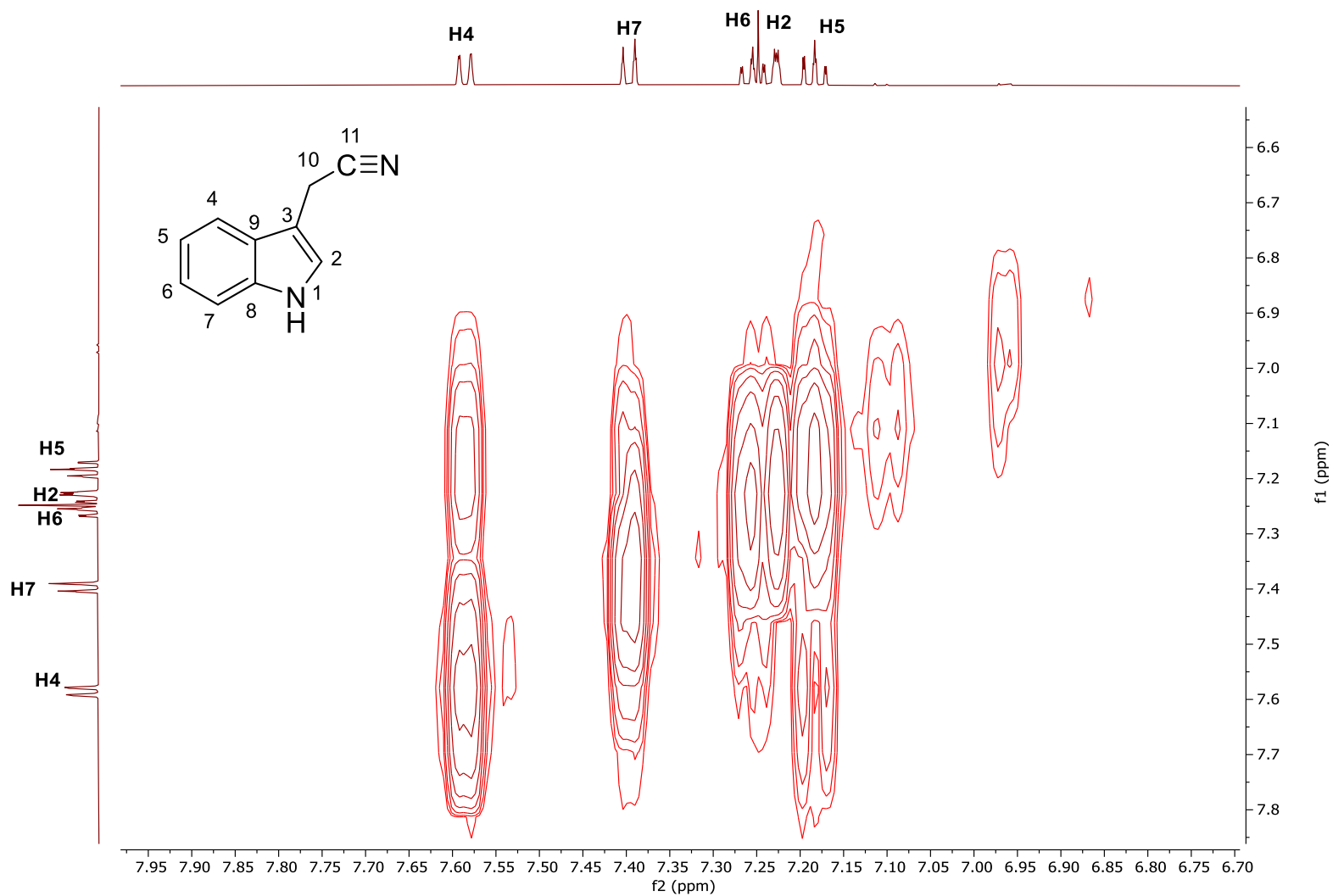
Espectro 9. IR de 3-indolacetonitrilo (11).



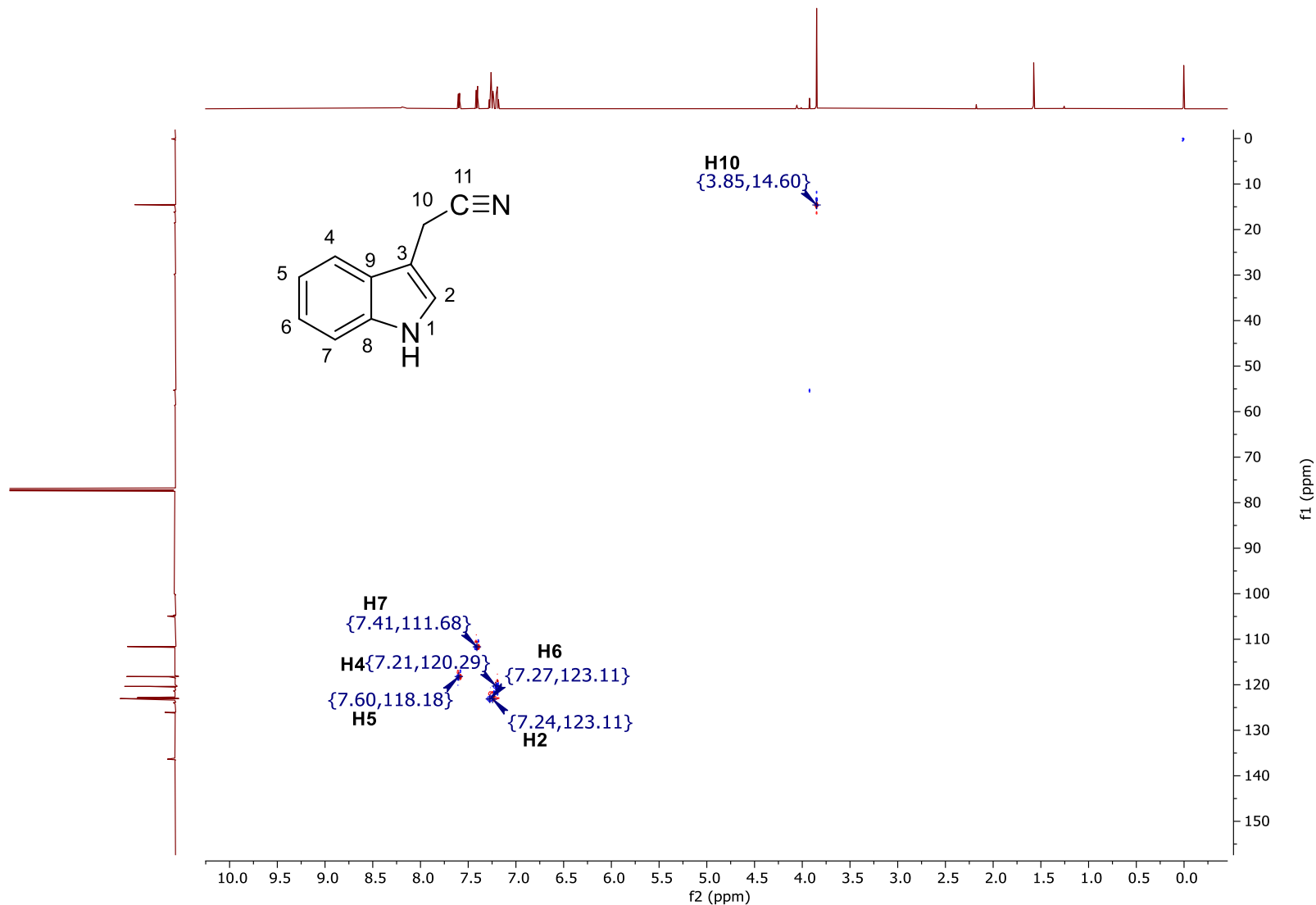
Espectro 10. RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz) de 3-indolacetonitrilo (11).



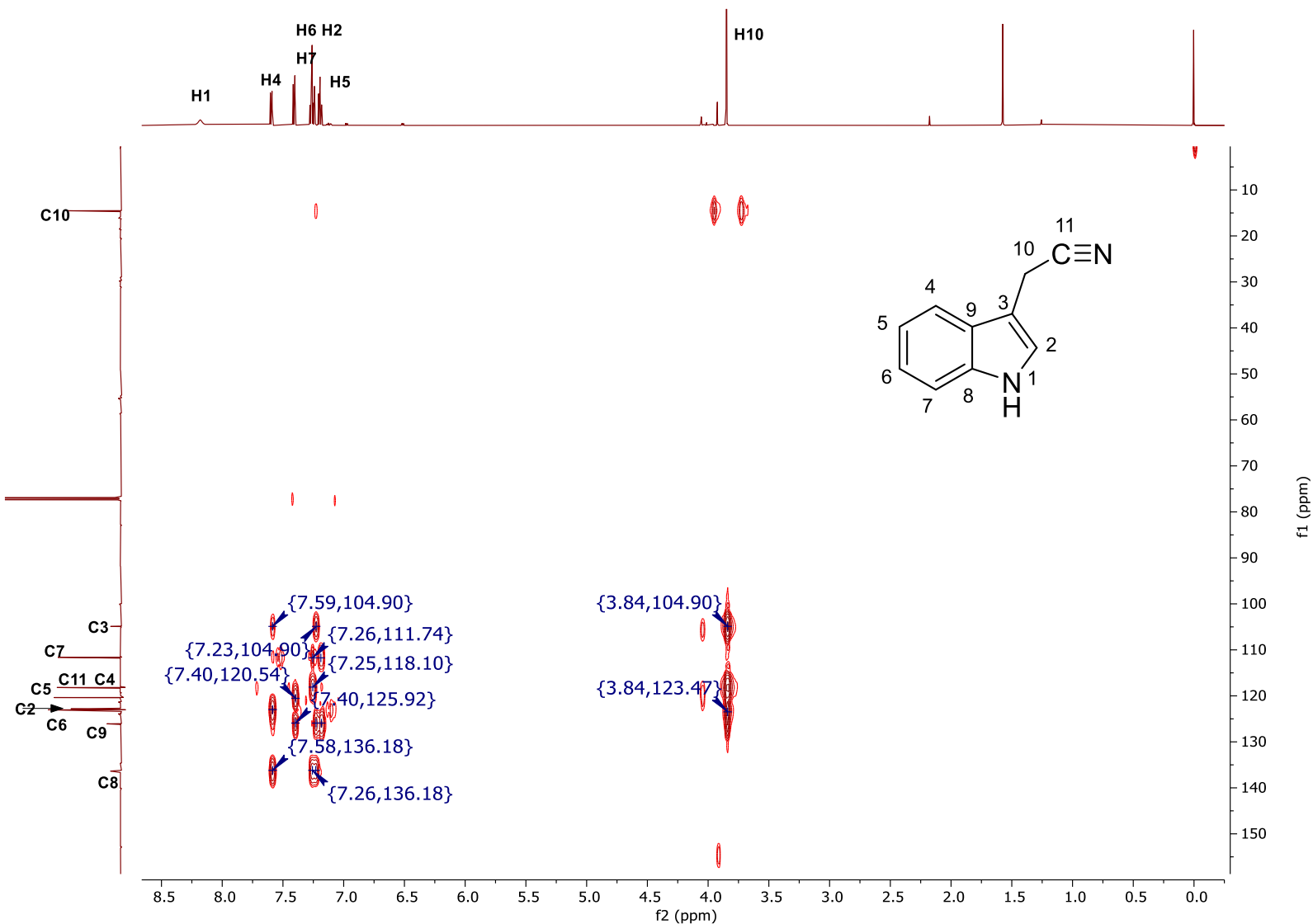
Espectro 11. RMN ¹³C (CDCl₃, 150 MHz) de 3-indolacetonitrilo (11)



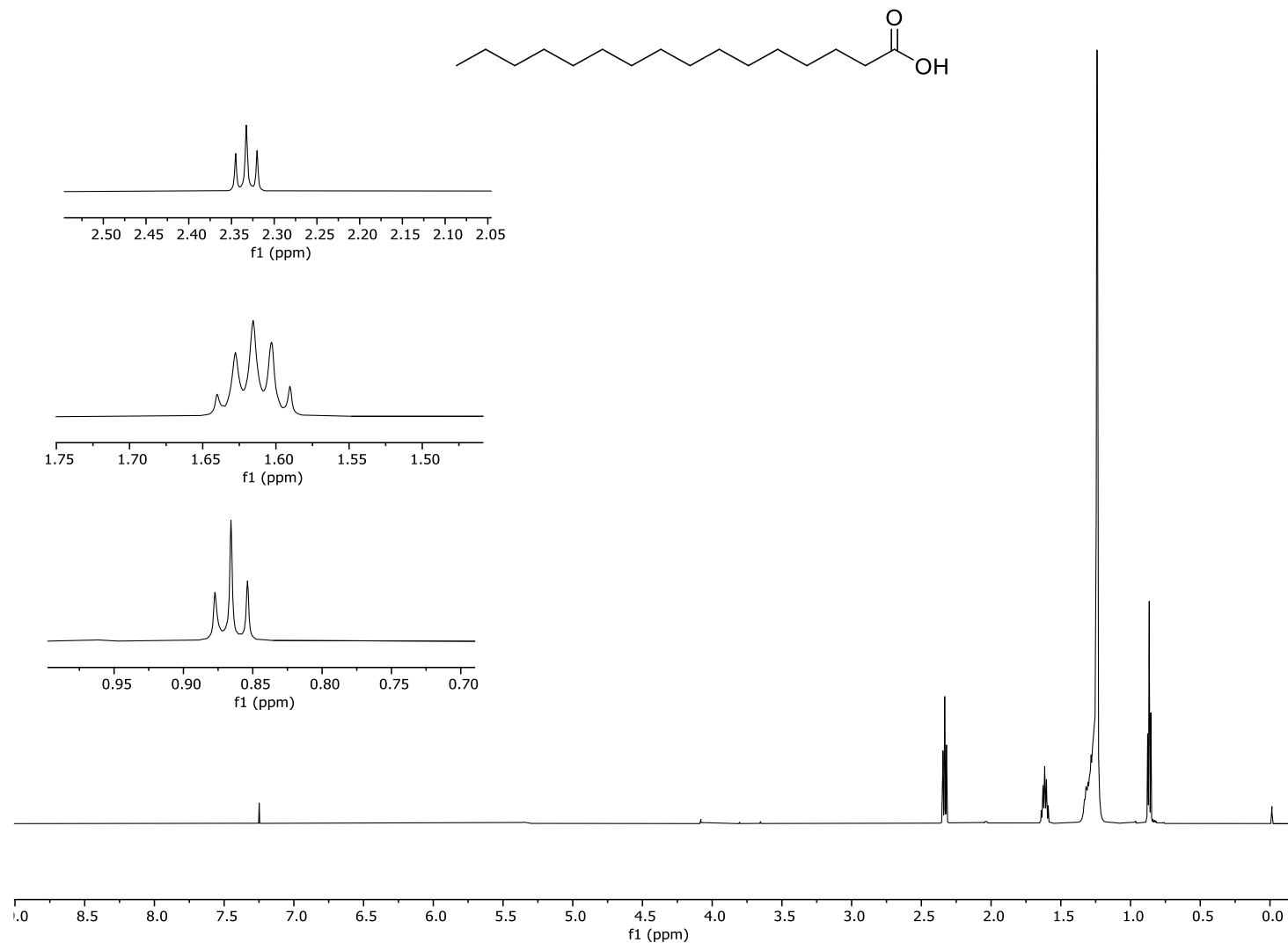
Espectro 12. RMN COSY (CDCl₃, 600 MHz) de 3-indolacetonitrilo (**11**)



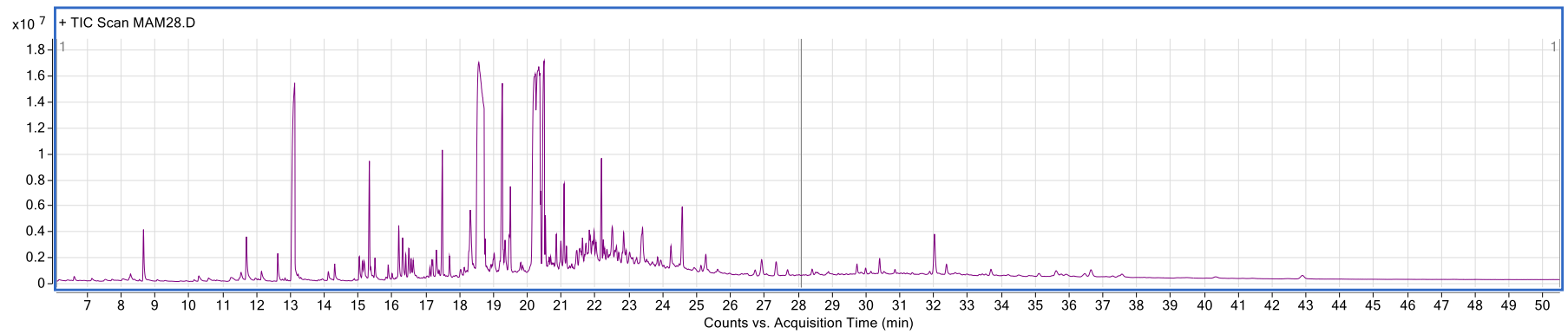
Espectro 13. RMN HSQC (CDCl₃, 600 MHz) de 3-indolacetonitrilo (11)



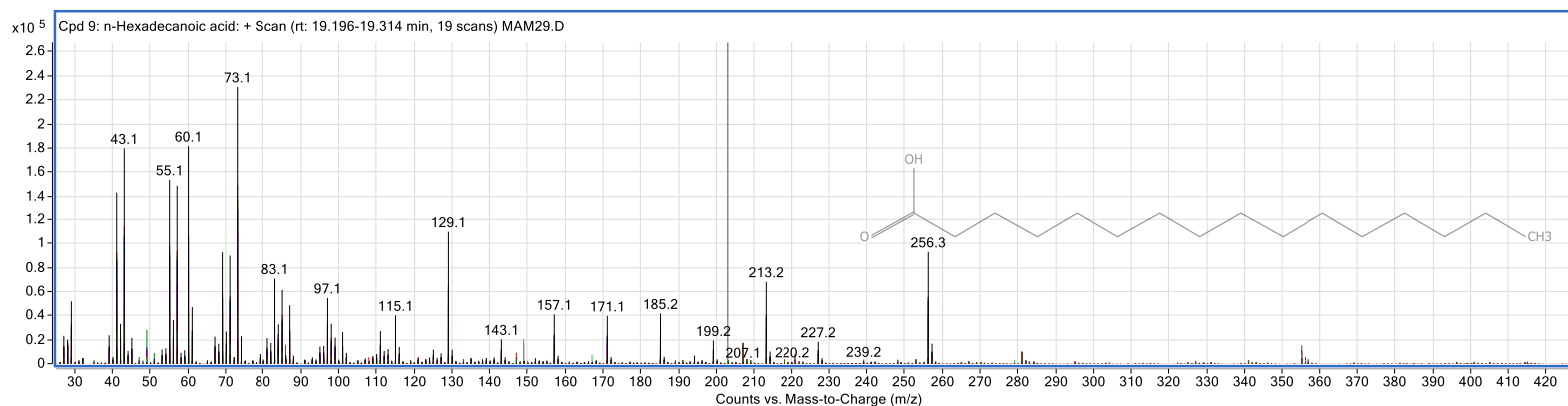
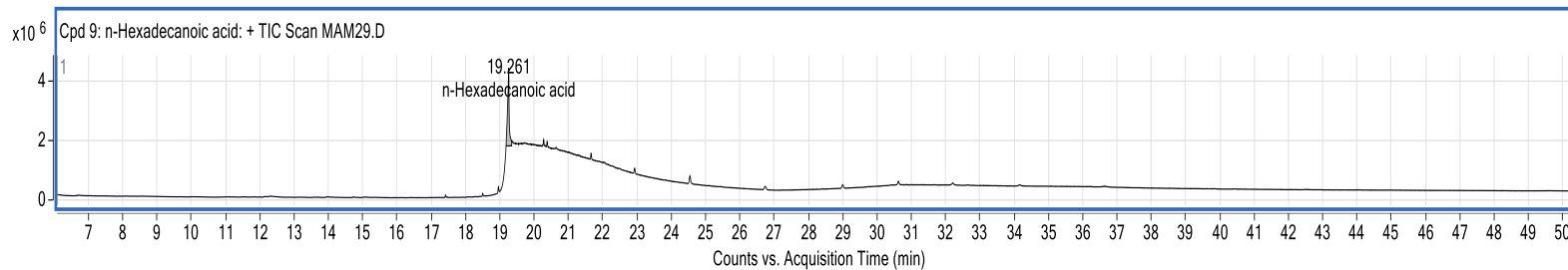
Espectro 14. RMN HMBC (CDCl₃, 600 MHz) de 3-indolacetonitrilo (11)



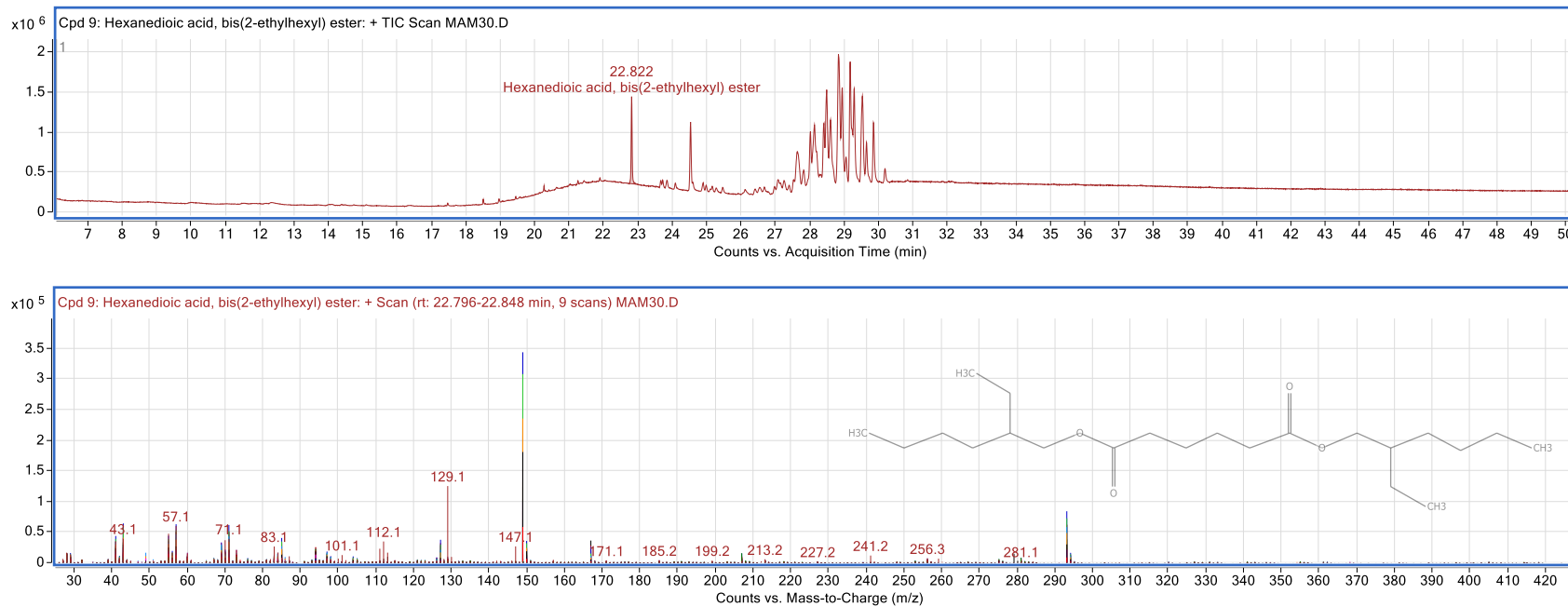
Espectro 15. RMN ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) de n-ácido hexadecanoico (12).



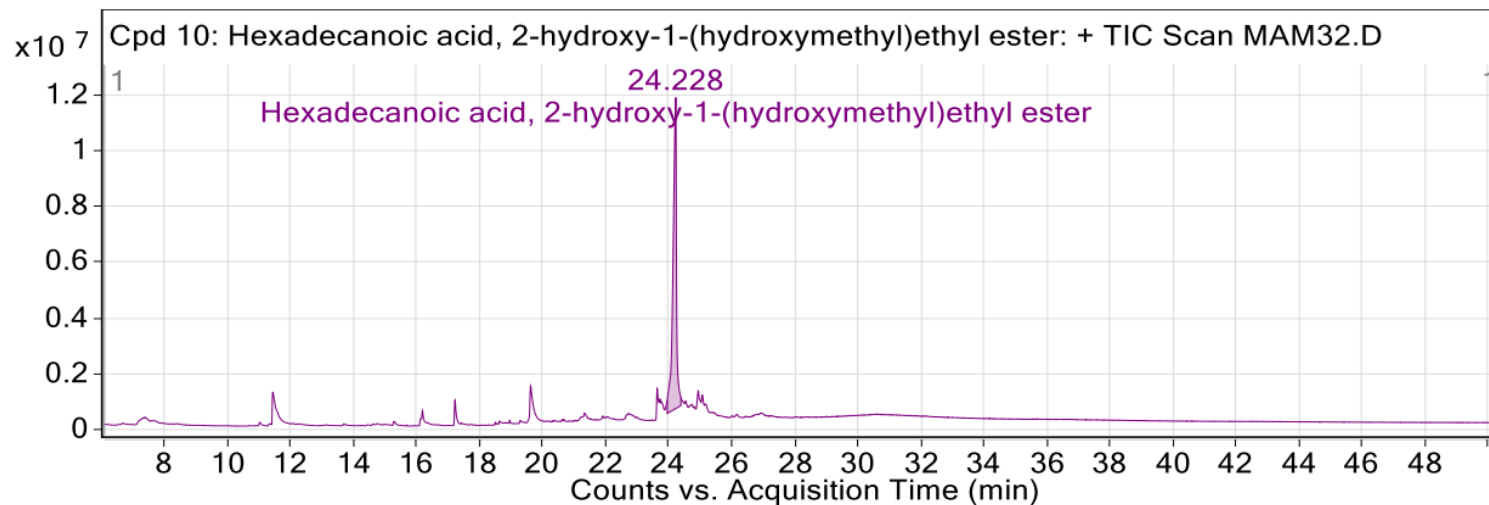
Cromatograma 1. CG-EM de DCP53-01



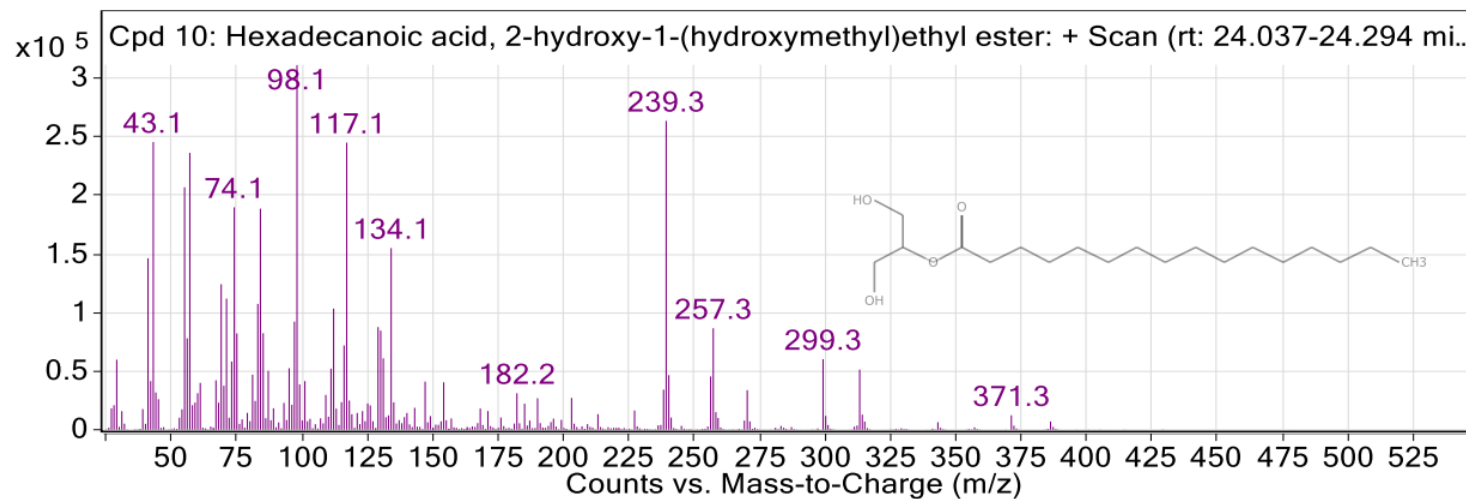
Cromatograma 2. CG-EM de ácido hexadecanoico (12)



Cromatograma 3. CG-EM de éster del ácido bis-(2-etilhexil) (13)



MS Spectrum



Cromatograma 4. CG -EM del éster del ácido Hexadecanoico-2-hidroxi-1-(hidroximetil)etil (14)

11. BIBLIOGRAFÍAS

- (1) Ramirez, D.; Abellán-Victorio, A.; Beretta, V.; Camargo, A.; Moreno, D. A. Functional ingredients from brassicaceae species: overview and perspectives. *International journal of molecular sciences* **2020**, *21* (6). <https://doi.org/10.3390/ijms21061998>.
- (2) Le, T. N.; Chiu, C. H.; Hsieh, P. C. Bioactive compounds and bioactivities of *brassica oleracea* l. var. *italica* sprouts and microgreens: an updated overview from a nutraceutical perspective. *Plants* **2020**, *Vol. 9*, Page 946 **2020**, *9* (8), 946. <https://doi.org/10.3390/PLANTS9080946>.
- (3) Owis, A. I. Broccoli; the green beauty: A Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* **2015**, *7* (9), 696.
- (4) Araya L, H.; Lutz R, M. Alimentos funcionales y saludables. *Revista chilena de nutrición* **2003**, *30* (1), 8–14. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182003000100001>.
- (5) Valenzuela B., A.; Sanhueza, J.; Valenzuela, R.; Morales I., G. Alimentos funcionales, nutraceuticos y foshu: ¿vamos hacia un nuevo concepto de alimentación?. *Revista chilena de nutrición* **2014**, *41* (2), 198–204. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182014000200011>.
- (6) Cortés R, M.; Chiralt B, A.; Puente D, L. Alimentos funcionales: una historia con mucho presente y futuro. *Vitae* **2005**, *12* (1), 5–14.
- (7) Mexicana De Pediatría, R.; Guzmán, B.; Hernández, J.; Ortega, S.; Viruegas, R.; Barrita, S. Los nutraceuticos. lo que es conveniente saber. *Revista mexicana de pediatría* **2009**, *76*, 136–145.
- (8) *Vista de Nutraceuticos, alimentos funcionales y su producción*. <https://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/7307/7520> (accessed 2022-08-21).
- (9) Rojas Jiménez, S.; Sebastián, J.; Valle, L.; Ocampo, A. U.; Correa Pérez, S.; Perilla Hernández, N.; Sebastián, J.; Cárdenas, M. Consumo de nutraceuticos, una alternativa en la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles. *Biosalud* **2015**, *14* (2), 91–103. <https://doi.org/10.17151/BIOSA.2015.14.2.9>.
- (10) Leonard, H. P. Nutraceuticos: componente emergente para el beneficio de la salud. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar* **2006**, *40* (3), 20–28.
- (11) Ford, A.; Dahl, W. J. Alimentos funcionales. *Food Science and Human Nutrition* **2012**, *12* (17), 1-2.

- (12) Friend, D. J. C. *Brassica. CRC Handbook of Flowering* **2019**, 48–77.
- (13) Gómez, C. *Biology of Brassica Coenospecies*, 1st ed.; ELSEVIER, Ed.; **1999**.
- (14) Franzke, A.; Lysak, M. A.; Al-Shehbaz, I. A.; Koch, M. A.; Mummenhoff, K. Cabbage Family Affairs: The evolutionary history of brassicaceae. *Trends in Plant Science* **2011**, 16 (2), 108–116. <https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2010.11.005>.
- (15) *Brócoli, Coliflor Y Repollo (Brassica oleracea)* · *NaturaLista Mexico*. <https://www.naturalista.mx/taxa/54516-Brassica-oleracea> (accessed 2022-08-22).
- (16) *Brassica oleracea* L. <https://www.gbif.org/species/3042845> (accessed 2022-08-22).
- (17) Fernanda, M.; León, F.; Mercedes, F.; Ruiz, L.; González Gómez, D.; Concepción, M.; Yuste Badajoz, A. Evolución de los parámetros de calidad físico-química y funcional de distintas *brassicáceas* sometidas a diferentes tratamientos postcosecha, Universidad de Extremadura, Extremadura, **2013**.
- (18) *Brócoli - 5 al día*. <https://5aldia.cl/frutas-y-vegetales/brocoli/> (accessed 2022-08-22).
- (19) Toledo H., J. Cultivo del brócoli. *Instituto Nacional de Innovación Agraria* **2003**.
- (20) SAGARPA. *Monografía de Cultivos - Brócoli*; 2011.
- (21) *Brocoli - Negocios y Mercados*. <https://amhpac.org/negociosymercados/socios/v2/brocoli/> (accessed 2022-08-22).
- (22) SAGARPA. *Márgenes de Comercialización*. **2015**.
- (23) Santoyo, J.; Martínez, C. Tecnología de producción de brócoli; *Fundación Produce Sinaloa, A.C.*, **2011**.
- (24) Le, T. N.; Chiu, C. H.; Hsieh, P. C. Bioactive compounds and bioactivities of *Brassica oleracea* L. var. *italica* sprouts and microgreens: an updated overview from a nutraceutical perspective. *Plants (Basel)* **2020**, 9 (8), 1–23. <https://doi.org/10.3390/PLANTS9080946>.
- (25) Vargas, L.; Kapoor, R.; Nemzer, B.; Feng, H. Application of different drying methods for evaluation of phytochemical content and physical properties of broccoli, kale, and spinach. *LWT - Food Science and Technology* **2022**, 155, 112892. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.112892>.

- (26) Paulsen, E.; Moreno, D. A.; Periago, P. M.; Lema, P. Influence of microwave bag vs. conventional microwave cooking on phytochemicals of industrially and domestically processed broccoli. *Food Research International* **2021**, *140*, 110077. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2020.110077>.
- (27) Pérez-Balibrea, S.; Moreno, D. A.; García-Viguera, C. Improving the phytochemical composition of broccoli sprouts by elicitation. *Food Chemistry* **2011**, *129* (1), 35–44. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2011.03.049>.
- (28) Li, C.; Song, S.; He, Y.; Zhang, X.; Liu, H. CaCl₂-HCl Electrolyzed water affects glucosinolate metabolism and improves the quality of broccoli sprouts. *Food Research International* **2021**, *150*, 110807. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2021.110807>.
- (29) Duarte-Sierra, A.; Munzoor Hasan, S. M.; Angers, P.; Arul, J. UV-B Radiation hormesis in broccoli florets: glucosinolates and hydroxy-cinnamates are enhanced by UV-B in florets during storage. *Postharvest Biol Technol* **2020**, *168*, 111278. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2020.111278>.
- (30) Almuhayawi, M. S.; AbdElgawad, H.; al Jaouni, S. K.; Selim, S.; Hassan, A. H. A.; Khamis, G. Elevated CO₂ improves glucosinolate metabolism and stimulates anticancer and anti-inflammatory properties of broccoli sprouts. *Food Chemistry* **2020**, *328*, 127102. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2020.127102>.
- (31) Radošević, K.; Srček, V. G.; Bubalo, M. C.; Rimac Brnčić, S.; Takács, K.; Redovniković, I. R. Assessment of glucosinolates, antioxidative and antiproliferative activity of broccoli and collard extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* **2017**, *61*, 59–66. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2017.02.001>.
- (32) Fernández-León, A. M.; Fernández-León, M. F.; González-Gómez, D.; Ayuso, M. C.; Bernalte, M. J. Quantification and bioaccessibility of intact glucosinolates in broccoli 'Parthenon' and savoy cabbage 'Dama'. *Journal of Food Composition and Analysis* **2017**, *61*, 40–46. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2016.11.010>.
- (33) Rochfort, S.; Caridi, D.; Stinton, M.; Trenerry, V. C.; Jones, R. The isolation and purification of glucoraphanin from broccoli seeds by solid phase extraction and preparative high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* **2006**, *1120* (1–2), 205–210. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2006.01.046>.
- (34) Wang, J.; Gu, H.; Yu, H.; Zhao, Z.; Sheng, X.; Zhang, X. Genotypic variation of glucosinolates in broccoli (*Brassica Oleracea* var. *italica*) florets from china. *Food Chemistry* **2012**, *133* (3), 735–741. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2012.01.085>.

- (35) Radünz, M.; Mota Camargo, T.; dos Santos Hackbart, H. C.; Blank, J. P.; Hoffmann, J. F.; Moro Stefanello, F.; da Rosa Zavareze, E. Encapsulation of broccoli extract by electrospraying: influence of in vitro simulated digestion on phenolic and glucosinolate contents, and on antioxidant and antihyperglycemic activities. *Food Chemistry* **2021**, 339, 128075. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2020.128075>.
- (36) Amer, M. A.; Mohamed, T. R.; Abdel Rahman, R. A.; Ali, M.; Badr, A. Studies on exogenous elicitors promotion of sulforaphane content in broccoli sprouts and its effect on the MDA-MB-231 breast cancer cell line. *Annals of Agricultural Sciences* **2021**, 66 (1), 46–52. <https://doi.org/10.1016/J.AOAS.2021.02.001>.
- (37) Bello, C.; Maldini, M.; Baima, S.; Scaccini, C.; Natella, F. Glucoraphanin and sulforaphane evolution during juice preparation from broccoli sprouts. *Food Chemistry* **2018**, 268, 249–256. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.06.089>.
- (38) Guo, L.; Zhu, Y.; Wang, F. Calcium sulfate treatment enhances bioactive compounds and antioxidant capacity in broccoli sprouts during growth and storage. *Postharvest Biology Technology* **2018**, 139, 12–19. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2018.01.010>.
- (39) Eugui, D.; Velasco, P.; Abril-Urías, P.; Escobar, C.; Gómez-Torres, Ó.; Caballero, S.; Poveda, J. Glucosinolate-extracts from residues of conventional and organic cultivated broccoli leaves (*brassica oleracea var. italica*) as potential industrially-scalable efficient biopesticides against fungi, oomycetes and plant parasitic nematodes. *Industrial Crops and Products* **2023**, 200, 116841. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2023.116841>.
- (40) Salas-Millán, J. Á.; Aznar, A.; Conesa, E.; Conesa-Bueno, A.; Aguayo, E. Functional food obtained from fermentation of broccoli by-products (stalk): metagenomics profile and glucosinolate and phenolic compounds characterization by LC-ESI-QqQ-MS/MS. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* **2022**, 169, 113915. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2022.113915>.
- (41) Li, Z.; Liu, G.; He, H.; Liu, Y.; Han, F.; Liu, W. Effects of nanocarbon solution treatment on the nutrients and glucosinolate metabolism in broccoli. *Food Chemistry*: X **2022**, 15, 100429. <https://doi.org/10.1016/J.FOCHX.2022.100429>.
- (42) Huang, X.; Cheng, B.; Wang, Y.; Liu, G.; Hu, L.; Yu, X.; He, H. Effects of fresh-cut and storage on glucosinolates profile using broccoli as a case study. *Horticultural Plant Journal* **2023**, 9 (2), 285–292. <https://doi.org/10.1016/J.HPJ.2022.07.007>.

- (43) Casajús, V.; Civello, P.; Martínez, G.; Howe, K.; Fish, T.; Yang, Y.; Thannhauser, T.; Li, L.; Gómez Lobato, M. Effect of continuous white light illumination on glucosinolate metabolism during postharvest storage of broccoli. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* **2021**, 145. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.111302>.
- (44) Rios, J. J.; Pascual, J. A.; Guillen, M.; Lopez-Martinez, A.; Carvajal, M. Influence of foliar methyl-jasmonate biostimulation on exudation of glucosinolates and their effect on root pathogens of broccoli plants under salinity condition. *Scientia Horticulturae* **2021**, 282. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2021.110027>.
- (45) Chiu, Y. C.; Matak, K.; Ku, K. M. Methyl jasmonate treated broccoli: impact on the production of glucosinolates and consumer preferences. *Food Chemistry* **2019**, 299. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.125099>.
- (46) Ferreira, S. S.; Monteiro, F.; Passos, C. P.; Silva, A. M. S.; Wessel, D. F.; Coimbra, M. A.; Cardoso, S. M. Blanching impact on pigments, glucosinolates, and phenolics of dehydrated broccoli by-products. *Food Research International* **2020**, 132. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2020.109055>.
- (47) Jones, R. B.; Frisina, C. L.; Winkler, S.; Imsic, M.; Tomkins, R. B. Cooking method significantly effects glucosinolate content and sulforaphane production in broccoli florets. *Food Chemistry* **2010**, 123 (2), 237–242. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2010.04.016>.
- (48) Baenas, N.; Gómez-Jodar, I.; Moreno, D. A.; García-Viguera, C.; Periago, P. M. Broccoli and radish sprouts are safe and rich in bioactive phytochemicals. *Postharvest Biology and Technology* **2017**, 127, 60–67. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2017.01.010>.
- (49) Gudiño, I.; Martín, A.; Casquete, R.; Prieto, M. H.; Ayuso, M. C.; Córdoba, M. G. Evaluation of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) crop by-products as sources of bioactive compounds. *Scientia Horticulturae* **2022**, 304, 111284. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2022.111284>.
- (50) Xue, A.; Liang, W.; Wen, S.; Gao, Y.; Huang, X.; Tong, Y.; Hao, Y.; Luo, L. Metabolomic analysis based on EESI-MS indicate blue LED light promotes aliphatic-glucosinolates biosynthesis in broccoli sprouts. *Journal of Food Composition and Analysis* **2021**, 97, 103777. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2020.103777>.
- (51) Yang, R.; Guo, L.; Jin, X.; Shen, C.; Zhou, Y.; Gu, Z. Enhancement of glucosinolate and sulforaphane formation of broccoli sprouts by zinc sulphate via its stress effect. *Journal of Functional Foods* **2015**, 13, 345–349. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2015.01.007>.

- (52) Mølmann, J. A. B.; Steindal, A. L. H.; Bengtsson, G. B.; Seljåsen, R.; Lea, P.; Skaret, J.; Johansen, T. J. Effects of temperature and photoperiod on sensory quality and contents of glucosinolates, flavonols and vitamin c in broccoli florets. *Food Chemistry* **2015**, *172*, 47–55. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2014.09.015>.
- (53) Omirou, M.; Karpouzas, D. G.; Papadopoulou, K. K.; Ehaliotis, c. dissipation of pure and broccoli-released glucosinolates in soil under high and low moisture content. *European Journal of Soil Biology* **2013**, *56*, 49–55. <https://doi.org/10.1016/J.EJSOBI.2013.01.005>.
- (54) Troyer, J. K.; Stephenson, K. K.; Fahey, J. W. Analysis of glucosinolates from broccoli and other cruciferous vegetables by hydrophilic interaction liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* **2001**, *919* (2), 299–304. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)00842-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)00842-1).
- (55) Pérez, A. R. Biosíntesis de los glucosinolatos e importancia nutricional humana y funciones de protección a las plantas. *Alimentos Hoy* **2014**, *22* (31), 64–80.
- (56) Xu, X.; Bi, S.; Lao, F.; Chen, F.; Liao, X.; Wu, J. Induced changes in bioactive compounds of broccoli juices after fermented by animal- and plant-derived pediococcus pentosaceus. *Food Chemistry* **2021**, *357*, 129767. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.129767>.
- (57) Hanschen, F. S.; Lamy, E.; Schreiner, M.; Rohn, S. Reactivity and stability of glucosinolates and their breakdown products in foods. *Angewandte Chemie* **2014**, *53* (43), 11430–11450. <https://doi.org/10.1002/ANIE.201402639>.
- (58) ¿Qué es el cáncer? <https://www.cancer.org/es/tratamiento/como-comprender-su-diagnostico/que-es-el-cancer.html> (accessed 2022-08-21).
- (59) Cáncer de mama. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer> (accessed 2022-08-21).
- (60) Bray, F.; Ferlay, J.; Soerjomataram, I.; Siegel, R. L.; Torre, L. A.; Jemal, A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* **2018**, *68* (6), 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>.
- (61) *Comunicación social estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer.* <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (accessed 2022-08-21).
- (62) Moran García, R. S.; Quintero Soto, M. L. Cervical cancer in Mexico and importance of sex education for early prevention in young people and rural population. *Medwave* **2012**, *12* (07), e5453–e5453. <https://doi.org/10.5867/MEDWAVE.2012.07.5453>.

- (63) Manuel Vargas-Hernández, V.; Acosta-Altamirano, G.; Manuel Vargas Hernández, V. Prevención primaria del cáncer cervicouterino. *Cirugía y Cirujanos* **2012**, 80 (3), 291–300.
- (64) *Factores de riesgo para el cáncer de cuello uterino*. <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-cuello-uterino/causas-riesgos-prevencion/factores-de-riesgo.html> (accessed 2022-08-22).
- (65) *Tratamiento del cáncer de cuello uterino (PDQ®)–Versión para pacientes - NCI*. <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/cuello-uterino/paciente/tratamiento-cuello-uterino-pdq> (accessed 2022-08-22).
- (66) Steward, W. P.; Brown, K. Cancer chemoprevention: A rapidly evolving field. *British Journal of Cancer* 2013 109:1 **2013**, 109 (1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.280>.
- (67) Adaniel, C.; Itriago, L.; Álvarez, M. La quimioprevención para pacientes con mutaciones hereditarias de predisposición al cáncer. *Revista Médica Clínica Las Condes* **2017**, 28 (4), 627–631. <https://doi.org/10.1016/J.RMCLC.2017.05.019>.
- (68) Organization, P. A. H.; Organization, P. A. H. Las enfermedades reumáticas como problema de salud comunitario : guía para el manejo y control de las enfermedades reumáticas más frecuentes. OPS. Serie PALTEX para Ejecutores de Programas de Salud **1988**;(18).
- (69) *Quimioprevención | MD Anderson Cancer Center Madrid*. <https://mdanderson.es/el-cancer/prevencion/quimioprevencion> (accessed 2022-08-22).
- (70) Pérez-Morales López, G.; Morales Gómez, P.; Haza Duaso, A. I. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPS) (I): medidas de prevención y control. *Revista complutense de ciencias veterinarias* **2016**, 10 (1), 16–34.
- (71) Taber, D. F. TLC Mesh Column Chromatography. *Journal of Organic Chemistry* **1982**, 47 (7), 1351–1352. <https://doi.org/10.1021/JO00346A039>.
- (72) Mitsuo, T.; Nobukatsu, K.; Akira, S. Isolation of three novel sulphur-containing phytoalexins from the chinese cabbage *Brassica Campestris* *l.* ssp. *pekinensis* (cruciferae). *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1986**, No. 14, 1077–1078.
- (73) Guerrero, A. Estudio químico, quimioinformático y actividad citotóxica de los vegetales crucíferos *brassica oleracea l.* var. *italica* (brócoli) y var. *sabellica* (Kale), UAEM, Cuernavaca, Morelos, 2023.
- (74) Pedras, M. S. C.; Sarwar, M. G.; Suchy, M.; Adio, A. M. The phytoalexins from cauliflower, Caulilexins A, B and C: isolation, structure determination,

- syntheses and antifungal Activity. *Phytochemistry* **2006**, 67 (14), 1503–1509. <https://doi.org/10.1016/J.PHYTOCHEM.2006.05.020>.
- (75) De Vos, M.; Kriksunov, K. L.; Jander, G. Indole-3-Acetonitrile production from indole glucosinolates deters oviposition by *Pieris rapae*. *Plant Physiology* **2008**, 146 (3), 916–926. <https://doi.org/10.1104/PP.107.112185>.
- (76) *FI16427 | 771-51-7 | Indol-3-acetonitrilo | Biosintetizador*. <https://www.biosynth.com/p/FI16427/771-51-7-indole-3-acetonitrile> (accessed 2023-05-11).
- (77) Hashem, F. A.; Motawea, H.; El-Shabrawy, A. E.; Shaker, K.; El-Sherbini, S. Myrosinase hydrolysates of *brassica oleraceae* l. var. *italica* reduce the risk of colon cancer. *Phytotherapy Research* **2012**, 26 (5), 743–747. <https://doi.org/10.1002/PTR.3591>.
- (78) Peña, M.; Guzmán, A.; Martínez, R.; Mesas, C.; Prados, J.; Porres, J. M.; Melguizo, C. Preventive effects of brassicaceae family for colon cancer prevention: a focus on *in vitro* studies. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2022**, 151, 113145. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2022.113145>.
- (79) Csomós, P.; Zupkó, I.; Réthy, B.; Fodor, L.; Falkay, G.; Bernáth, G. Isobrassinin and its analogues: novel types of antiproliferative agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2006**, 16 (24), 6273–6276. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2006.09.016>.
- (80) Chripkova, M.; Zigo, F.; Mojzis, J. Antiproliferative effect of indole phytoalexins. *Molecules* 2016, Vol. 21, Page 1626 **2016**, 21 (12), 1626. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES21121626>.





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Facultad de Ciencias
Químicas e Ingeniería

DRA. LAURA PATRICIA ÁLVAREZ BERBER
DRA. MAYRA YANETH ANTÚNEZ MOJICA
DR. IVÁN OMAR ROMERO ESTUDILLO
DR. RUBÉN OSWALDO ARGÜELLO VELASCO
MTRA. SILVIA MARQUINA BAHENA
P R E S E N T E

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS e INGENIERÍA

Programas educativos de calidad reconocidos por CIEES, CACEI y CONACYT
SGI certificado en la norma ISO 9001:2015 e ISO 21001:2018

FORMA T-4A
NOMBRAMIENTO COMITÉ REVISOR

Cuernavaca, Mor., a **05 de junio de 2023**

Me permito comunicarles que han sido designados integrantes del **COMITÉ REVISOR** del trabajo de **TESIS**
Titulado:

**ESTUDIO SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL EXTRACTO METANÓLICO DEL BAGAZO DEL
BRÓCOLI, *Brassica oleracea* var. *italica***

Que presenta la **C. DELIZAIEL CADENAS PONCE**

Del programa educativo de: **QUÍMICO INDUSTRIAL** de la **FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E
INGENIERÍA**

Para obtener el grado académico de: **LICENCIATURA EN QUÍMICO INDUSTRIAL**

Dirigido por: **DRA. MAYRA YANETH ANTÚNEZ MOJICA**

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

DRA. VIRIDIANA AYDEÉ LEÓN HERNÁNDEZ
DIRECTORA

Se anexa firma electrónica

D I C T A M E N

DRA. VIRIDIANA AYDEÉ LEÓN HERNÁNDEZ
DIRECTORA DE LA FCQeI
P R E S E N T E

En respuesta a su amable solicitud para emitir DICTÁMEN sobre el trabajo que se menciona, me permito
informarle que nuestro voto es:

VOTO	NOMBRE
APROBATORIO	DRA. LAURA PATRICIA ÁLVAREZ BERBER
APROBATORIO	DRA. MAYRA YANETH ANTÚNEZ MOJICA
APROBATORIO	DR. IVÁN OMAR ROMERO ESTUDILLO
APROBATORIO	DR. RUBÉN OSWALDO ARGÜELLO VELASCO
APROBATORIO	MTRA. SILVIA MARQUINA BAHENA

Se anexan firmas electrónicas de cada revisor en las cuales se incluye la fecha y hora que se ha emitido el voto aprobatorio

VALH/dco

Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209,
Tel. (777) 329 7000, Ext. 7039, fcqei@uaem.mx



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

VIRIDIANA AYDEE LEON HERNANDEZ | Fecha:2023-06-07 23:11:32 | Firmante

XWo1ponZ4wlKvFyWXJbnZ4BaVU2dYtWaLuhkJ6EH3f0Aqn7mZnjik6fm+TeZj9Oo+bgaHcYaNpUUjg5kp/iwGzdW7heOcaf0rWoZUw+FYG080kZeCplI8RsA1aXp2qd6QwQof4/V2c3IP9V8FB7T19TQkiOXvWeU62rN/K3dmHmHk1XQLJXxDmGIKTTx+CoHUm3mQIE/l6ug1+Sw/Ga7iP/gB6pCdyggH0HrHagvBaLRFsIjC00+dCRfCuwjF1lea/xdtJBcUSsxbIZV2gupu9iQs+Ag3NRP6XfBKwoth1VhxpDVlfbH7bXIPBMArC72f1/wIkRIYvt1Sib2HMA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[jXmK5wMuB](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/tazymuU4HjWzCcDt72u2RrfArOjsjre1>



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

RUBEN OSWALDO ARGUELLO VELASCO | Fecha:2023-06-12 11:52:22 | Firmante

F5K6xWcctML/APrUr2JPwq//NmZUUF3iz4AM352cP6mYKiMKqFYiEpolWQjS1ceVaE+wPeK0EPad3RK7GBXFjv3iGM+KbqCPduGccohBrSl1ejphLBOQ8xfPcoMRa7JmBLOUiPkDE2GJ4GP3DRpGwa0bn1V13H8IzV5ZcH4aUDk/f7pyclZdJ5Fak7heHrGptsG+5dDJEubbcinCMV/Rt5KJ/Y5k5LmuzblgoUZ37SCqCq073oinN4QNLWEpmgUct5Y5rxOI1AEPV MG63CG6H20sgn6YncsLuDNFv6x7m+64birklUW14L2f0SjukaGe0GMweAcrPNr66vjQPO1GQ==

SILVIA MARQUINA BAHENA | Fecha:2023-06-12 12:22:04 | Firmante

PaQEIPs90wvjDjugXNZtEuAljYtZq4lv4oUus6VwYphjt8WsQTEff1d9tZgJ6hBZ50HbzDinWlhp3U60QPkyORKDn8TLraNPNjG9iDuGeOVC7+h2ARsSVd38aJowGFTThmfYL2V1b7fAAse1XSm47faEN7McYJR6XriThLfvHFYZ560qy/WPX2MT+P03FS7vbnirfnV+2RBG2Y8uSSW+pbQEFAit31Z3+XgNnYiF0aMmZbg7iEdFmLLMrV+y9HvqfPhDus6jklvqE3dUk7R27nlhO4LT14D/nsndzIAWuVRdocGo4BqW63OLX4LA7CkSZYzFkPL0tmzef0LZNS3w==

MAYRA YANETH ANTUNEZ MOJICA | Fecha:2023-06-12 19:40:25 | Firmante

C6XJ4C2rkDfamva1ktqj6JtxjacclbH2sGakyS1Eed5O9nRYgQEhZqk6cJsCLu72U7PgsOfFo6tQUMdO7ys++3dR7n39kCl8nwg2l6hT8/20hcBr1vEEe04t6BgPG4020bxa2klllgXJbM3ZM0v/KdqAg3FjDEmc3gc68CCh7E cj1MUscKpUNMqnlP0WQvQnEyS4LRWWkgE4Llb8/FQHzROBso6E4woXVUUD2tQ0bggJq0EtkwPCyoGmosniw/JBO1hyAjnrRH/J+Nak+LL6ea3Uq/dgk5+Ri6rj5pUNmWluWB0klek8GPBEJNDcX1PWOJcIGOFsaO6FIW1Y944w==

IVAN OMAR ROMERO ESTUDILLO | Fecha:2023-06-16 19:00:28 | Firmante

EgFqbcvFs0SYoNdNipDA59QDa0YK9UBuRhrucR5P+V6LkZ2eHagXUGDD7WXsTXeW3ifOsJL2FyevOCXqBEgjZlZXca/2Lus4mT17+LwGSsFeodCpl4H0DrMT8dOAI//ns0siMn+ZHJPN2N1WdJhc7w+uuhLDSDZ35pPiU7PuZc81AGZL9+n49vZmSjXRp92Q0MNuVPv0eRdGMvn0lQ21oym0OxJJRt2/CoZhDpRAV773A0OKxoEj7dinnUb4aEtncJzRob0BQAmm08OBAqG+8taunJG/wKo8tdudo8tN5jq1p0USVSh6QrZ6UilLWFt+ZwEfQRg1kifNNSDNXOig==

LAURA PATRICIA ALVAREZ BERBER | Fecha:2023-08-15 11:37:42 | Firmante

OVpApLgghQxZZdqg59O6cWCl06Tj1smelp+la3KLpp3BalAnYBwJdM65yCayQMw6sv2T4B0PzK3izntZs96lqal3wTnd8CtYTpDXSlmH+b5d+Q0tmGn32lrlGnfV6j1SWcbF/8ccS4L6DdZYqYYIYK7D/jCxYRjZ3H2UV6wLOS+37tcrYZogYLzKMEcjJtg/ieLK53E9h2HmpEWutmo/17TV4Sn+CPB/Cxlm3nTbu2Sk5EgFLsY+cnTFVvdz6vPho5vhdxr467UOwwnlceeQvyy4bylCzApWXcN8i++kYZNLp6PEmYsoGyWlJUh+YkRmJ/g61k/+K4MVAZ2nQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



EJC1B2ZFe

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/h6ipKD2iv2cHDQKuCyxooy9XdZfRmPas>

