

Estudio químico de las plantas *Annona scleroderma* y *Annona globiflora* como fuente de compuestos citotóxicos

Chemical study of Annona scleroderma and Annona globiflora plants as a source of cytotoxic compounds

Javier Sosa-Rueda¹, Álvaro Peniche-Cardena², Karina Mondragón-Vásquez³, Jorge Domínguez-Chávez⁴, Francisco Cen-Pacheco^{5,*}

Resumen

El cáncer es una de las causas de muerte más frecuentes en la población mundial del siglo XXI. En México, desde 1995 se constituyó como el segundo motivo de muerte, con una incidencia de 12%; ante este panorama, actualmente se plantean diversas estrategias para el diseño de fármacos que permitan establecer un tratamiento eficaz contra esta patología. Una de ellas, es la búsqueda de moléculas naturales que puedan desarrollarse como fármacos anticancerígenos. Objetivo: evaluar la actividad anticancerígena de las fracciones Kupchan de *Annona scleroderma* y *Annona globiflora* sobre las líneas celulares de cáncer humano, HBL-100, HeLa, SW1573, T-47D y WiDr, y purificar sus compuestos mayoritarios. Materiales y métodos: las semillas de *A. scleroderma* y *A. globiflora* fueron extraídas con metanol. El extracto metanólico se fraccionó por el método de Kupchan, y las fracciones fueron probadas frente a cinco líneas de células cancerosas, mediante el ensayo de XTT. Para la purificación de las fracciones activas se utilizaron diversas técnicas cromatográficas. Resultados: las evaluaciones de las fracciones Kupchan contra cinco líneas cancerígenas, indican que las fracciones hexano y diclorometano de ambas especies poseen una notable actividad contra todas las líneas celulares, mientras que las demás fracciones Kupchan mostraron poca actividad (<50% de inhibición). El

Recibido: 27/02/22

Aprobado: 20/01/2023

¹ Estudiante de maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana, Miguel Ángel de Quevedo s/n, 91710 Veracruz, Veracruz, México

² Dr. en Ciencias Agropecuarias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana, Miguel Ángel de Quevedo s/n, 91710 Veracruz, Veracruz, México

³ Dra. en Ciencias. Facultad de Bioanálisis, Universidad Veracruzana, Iturbide s/n, 91700, Veracruz, Veracruz, México

⁴ Dr. en Ciencias. Facultad de Bioanálisis, Universidad Veracruzana, Iturbide s/n, 91700, Veracruz, Veracruz, México

⁵ Dr. en Química e Ingeniería Química. Facultad de Bioanálisis, Universidad Veracruzana, Iturbide s/n, 91700, Veracruz, Veracruz, México

*Autor de correspondencia: correo-e: fcen@uv.mx; Tel.: +52-229-9321707, Ext. 26213

estudio fitoquímico de estas plantas permitió el aislamiento de los compuestos: escuaminas C-F (1-4), rolliniastatina 2 (5) y bullatacinona (6). Conclusiones: con base en los resultados obtenidos, es evidente que las plantas *A. scleroderma* y *A. globiflora* tienen un gran potencial como una fuente de compuestos citotóxicos que podrían sentar las bases para el desarrollo de nuevos fármacos anticancerígenos. Así, por ejemplo, los compuestos aislados de estas plantas, escuaminas C-F (1-4), rolliniastatina 2 (5) y bullatacinona (6), poseen una marcada actividad contra diversas líneas celulares cancerosas.

Palabras claves: plantas, actividad anticancerígena, *Annona scleroderma*, *Annona globiflora*, compuestos citotóxicos.

Abstract

Introduction: cancer is one of the most frequent causes of death in the world population of the 21st century. In Mexico, since 1995 it became the second cause of death, with an incidence of 12%; given this scenario, various strategies are being addressed for the design of drugs that allow establishing an effective treatment against this pathology. One of these strategies is the search for natural molecules that can be developed as anticancer drugs. Objective: to evaluate the anticancer activity of the Kupchan fractions of *Annona scleroderma* and *Annona globiflora* on human cancer cell lines, HBL-100, HeLa, SW1573, T-47D and WiDr, and to purify their main compounds. Materials and methods: *A. scleroderma* and *A. globiflora* seeds were extracted with methanol. The methanolic extract was fractionated by the Kupchan method and these fractions were tested against five cancer cell lines using the XTT assay. Various chromatographic techniques were used for the purification of the active fractions. Results: evaluations of the Kupchan fractions against five cancer lines indicate that the hex-

Agradecimientos: este trabajo fue financiado por el gobierno del estado de Veracruz de Ignacio de la Llave y el Consejo Veracruzano de Investigación Científica (COVEICYDET) con número de Proyecto: 14 1953/2021. J.S.R. agradece a la fundación CONACyT por la beca otorgada (1075240).

Conflicto de intereses: los autores declaramos no tener ningún tipo de conflicto de intereses en la realización y/o publicación del presente trabajo.

ane and dichloromethane fractions of both species have remarkable activity against all cell lines, while the other Kupchan fractions showed little activity (<50% inhibition). The phytochemical study of these plants allowed the isolation of the compounds, squamins C-F (1-4), rolliniastatin 2 (5) and bullatacinone (6). Conclusions: Based on the results obtained, it is clear that the *A. scleroderma* and *A. globiflora* plants have great potential as a source of cytotoxic compounds that could lay the groundwork for the development of new anticancer drugs. Thus, for example, the compounds isolated from these plants, squamins C-F (1-4), rolliniastatin 2 (5) and bullatacinone (6) have marked activity against several cancer cell lines.

Keywords: plants, anticancer activity, *Annona scleroderma*, *Annona globiflora*, cytotoxic compounds.

Introducción

En 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró al cáncer como la principal causa de muerte en el mundo, con casi 10 millones de fallecimientos, que representan el 13% de todas las muertes a nivel mundial (Gonzalez-Angulo *et al.*, 2007; OMS, 2022). **Se reportó** al cáncer pulmonar con 1.8 millones de defunciones; **al** colorrectal con 935,000; **al** hepático con 830,000; **al** gástrico con 769,000, y **al de** mama con 685,000, como los más fatídicos en ese año (Ferlay J, 2020). En América, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) reportó, en 2020, 1.4 millones de muertes asociadas al cáncer; **de éstas**, 45% **ocurrió** en América latina y el Caribe (ALC). Desafortunadamente,

se espera que la mortalidad ascienda hasta 2.1 millones para 2030 (OPS, 2020). La tasa de mortalidad estandarizada a consecuencia de alguna neoplasia maligna fue de 120 muertes por cada 100 mil habitantes para ALC. Uruguay (184.8), República Dominicana (176.2), y Haití (159.8), **son** los países con las tasas más altas; en contraste, México presentó una de las tasas más bajas (87.0) (OCDE iLibrary, 2019). Las principales neoplasias causantes de muerte en México son: cáncer de pulmón, de mama, colorrectal, de próstata, y de estómago. Cada año se estiman 148 mil nuevos casos de cáncer (65.5 mil en hombres y 82.4 mil en mujeres) (SMeO, 2016). En 2020, las mayores tasas de defunciones registradas a causa del cáncer por cada 100,000 habitantes por entidad de residencia habitual, ocurrieron en Ciudad de México con 116, Chihuahua con 105, Sonora con 94, y Morelos y Veracruz de Ignacio de la Llave con 93 (INEGI, 2021).

Aun cuando México es considerado uno de los países con gran riqueza natural tanto de flora como de fauna, el porcentaje de organismos estudiados para la búsqueda de compuestos que puedan sentar las bases para el desarrollo de nuevos fármacos es relativamente bajo (Bye *et al.*, 1995). Se estima que el número de moléculas aisladas hasta la fecha no equivale ni **al** 10% de los potenciales principios activos que se esperaría encontrar en un país con la riqueza natural que posee México (Villarreal Ortega, 2008). Particularmente, las plantas terrestres han tenido un amplio uso en el tratamiento del cáncer, ya que se estima que más de 50% de los agentes anticancerígenos en uso derivan directa o indirectamente de fuentes natu-

rales (Newman & Cragg, 2016; Carroll *et al.*, 2021; Eskens & Verweij, 2000). En México se han empleado alrededor de 240 especies de plantas pertenecientes a 78 familias botánicas para tratar enfermedades con la sintomatología de cáncer (Villareal Ortega, 2008; Alonso-Castro *et al.*, 2010; Jacobo-Herrera *et al.*, 2015). Algunas de ellas son especies pertenecientes a la familia *Annonaceae*, que se caracterizan por poseer numerosas sustancias bioactivas de diversa naturaleza química, tales como alcaloides, terpenos, flavonoides, acetogeninas y aceites saponificables, que se obtienen de sus hojas, sus raíces, sus frutos, sus cortezas y sus semillas (Menezes *et al.*, 2021; Anaya-Esparza *et al.*, 2021). En las últimas décadas, los estudios fitoquímicos y farmacológicos sobre especies de *Annonaceae* se han intensificado, **pues** en un gran número de éstas se han descubierto acetogeninas y ciclopéptidos, dos grupos de compuestos naturales que poseen una gran variedad de actividades biológicas, que incluyen la capacidad de inducir apoptosis (muerte celular programada) en células cancerígenas (Dahiya & Dahiya *et al.*, 2021). En este trabajo, se **evaluó** la actividad anticancerígena de las fracciones Kupchan (hexano, diclorometano, acetato de etilo y metanol:agua) de *A. scleroderma* y *A. globiflora* sobre cinco líneas celulares cancerosas: HBL-100 (células epiteliales de mama, con potencial cancerígeno); HeLa (cáncer cervicouterino); SW1573 (cáncer de pulmón no microcítico); T-47D (células de cáncer de mama), y WiDr (células de cáncer de colon). Adicionalmente, se realizó la purificación fitoquímica de estas plantas, aislando seis compuestos: escuaminas C-F (1-4), rolliniastatina 2 (5), y bullatacinona (**6**) que poseen una marcada actividad contra la línea celular cancerosa DU-145 (cáncer de próstata humano) (Figura 1).

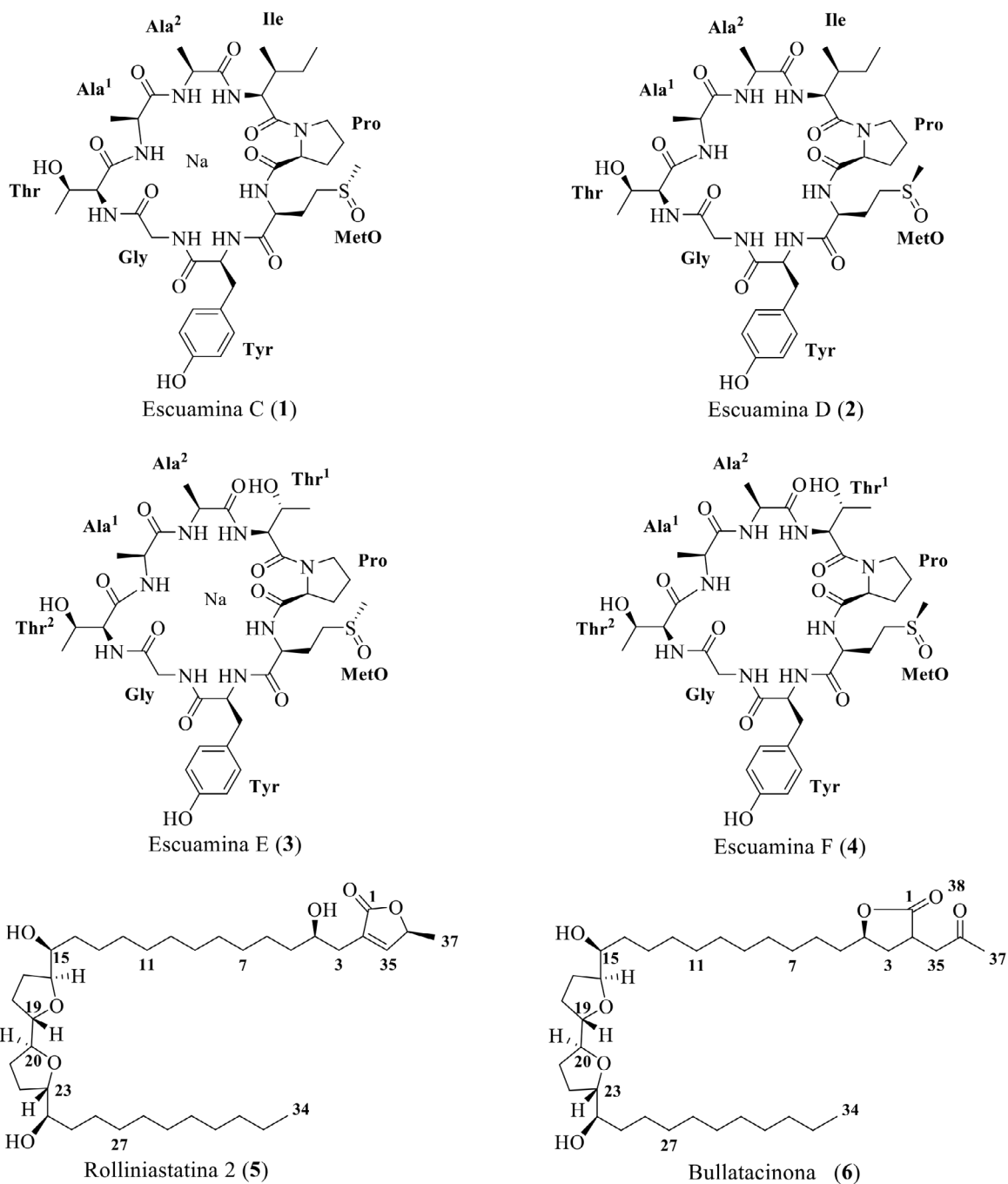


Figura 1. Compuestos aislados de *A. globiflora* y *A. scleroderma*

Objetivo

Evaluar la actividad anticancerígena de las fracciones Kupchan (hexano, diclorometano, acetato de etilo y metanol:agua) de *A. scleroderma* y *A. globiflora* sobre las líneas celulares de cáncer humano HBL-100 (células epiteliales de mama, con potencial cancerígeno), HeLa (cáncer cervicouterino), SW1573 (cáncer de pulmón no microcítico), T-47D (células de cáncer de mama), y WiDr (células de cáncer de colon), y purificar sus compuestos mayoritarios.

Materiales y métodos

Recolección del material vegetal

Los especímenes de *A. scleroderma* y *A. globiflora* fueron recolectados en enero de 2022, en Veracruz, Veracruz, México. Un espécimen de cada organismo fue depositado en el herbario del Instituto de Investigaciones Biológicas (CIB) de la Universidad Veracruzana (Figura 2).

Extracción de las semillas

Los frutos de las dos especies se despulparon y se obtuvieron las semillas *A. scleroderma* (700 g) y *A. globiflora* (250g); éstas se secaron a temperatura ambiente durante 14 días, para posteriormente molerlas en una licuadora. El triturado obtenido fue sometido a maceración en **frío** con metanol. Esta maceración consistió en sumergir las semillas en un recipiente con metanol **durante** dos horas, tiempo suficiente para que el disolvente se sature de las sustancias producidas por las semillas. Posteriormente, se recuperó el con-



Figura 2. Especimen de *A. scleroderma* (izquierda) y de *A. globiflora* (derecha).

Cultivo de las líneas celulares

La evaluación citotóxica de las fracciones Kupchan fue realizada sobre cultivos *in vitro* de las líneas celulares humanas de tumores sólidos: HBL-100 (células epiteliales de mama, con potencial cancerígeno); HeLa (cáncer cervicouterino); SW1573 (cáncer de pulmón no microcítico); T-47D (células de cáncer de mama), y WiDr (células de cáncer de colon). Las líneas celulares se mantuvieron en fase de crecimiento en el medio de cultivo RPMI-1640 enriquecido con 10% de suero fetal bovino, L-glutamina 2.0 mM, con la presencia de los antibióticos penicilina (100 unidades/mL) y estreptomycin (100 µg/mL), utilizando una incubadora a 37°C en una atmósfera con 5% de CO₂ y 95% de humedad. Las células se analizaron periódicamente para descartar infección por Mycoplasma, utilizando el kit de detección

centrado obtenido por filtración para evitar el paso de las semillas. Este procedimiento se **efectuó** tres veces para realizar una extracción exhaustiva. Así se obtuvieron los extractos metanólicos de *A. scleroderma* (ASM) y *A. globiflora* (AGM).

Fraccionamiento por el método de Kupchan

Los extractos metanólicos ASM y AGM fueron sometidos a un fraccionamiento por el método de Kupchan (Kupchan *et al.*, 1973; Ortiz-Celiseo *et al.*, 2021; Vanwageningen *et al.*, 1993). Este procedimiento consistió en redissolver los extractos metanólicos con 250 mL de una mezcla de metanol:agua (MeOH:H₂O 1:1) **agregando** posteriormente 250 mL de hexano (Hex); la mezcla obtenida se colocó en agitación **durante** dos horas y **entonces** se **desagregaron** las fases de hexano y de MeOH:H₂O en un embudo de separación, para obtener la fracción Hex como se muestra la **Figura 3**. Este mismo procedimiento se realizó para el diclorometano (DCM) y el acetato de etilo (AcOEt). Así, aprovechando las diferentes afinidades que poseen las sustancias con los disolventes utilizados, se separaron los compuestos en grupos de menor a mayor polaridad, fracción de Hex, de DCM, de AcOEt, y la fracción residual de MeOH:H₂O (**Figura 3**).

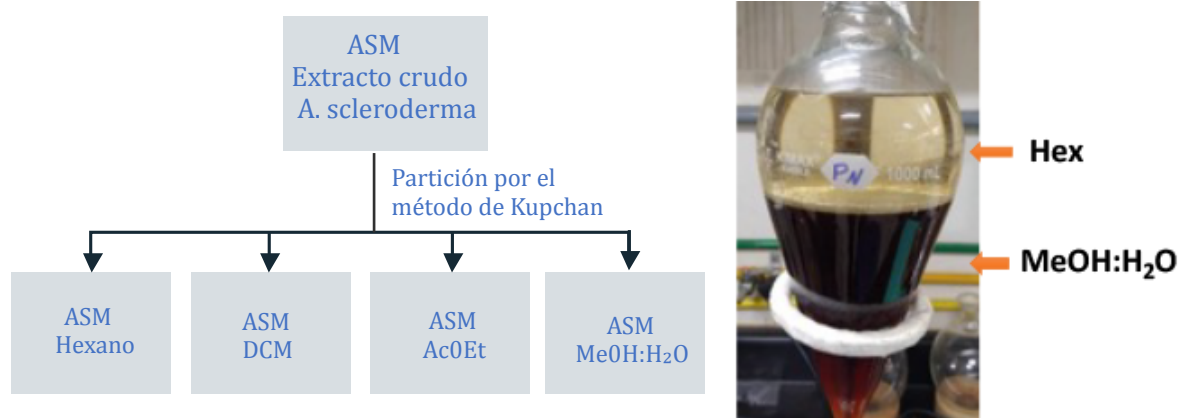


Figura 3. Fraccionamiento por el método de Kupchan de *A. scleroderma*

de Mycoplasma MycoAlert© (Lonza, Basilea, Suiza), así como el kit de detección por PCR de Mycoplasma Venor©GeM Advance (Minerva Biolabs, Berlín, Alemania), y así mantenerlas en condiciones adecuadas para el estudio.

Bioensayo citotóxico

El efecto de las fracciones Kupchan de *A. scleroderma* y *A. globiflora* sobre la proliferación de las cinco líneas celulares de cáncer humano HBL-100, HeLa, SW1573, T-47D, y WiDr, se determinó utilizando el bioensayo de la sal de tetrazolio 2,3-bis(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-5[[fenilamino) carbonil]-2H tetrazol hidróxido (XTT), con el kit de proliferación celular (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Alemania) (Cen-Pacheco *et al.*, 2019; Çankaya *et al.*, 2021). Así, se incubaron 5.0×10^3 células en 100 μ L en el medio de cultivo RPMI-1640 enriquecido con 10% de suero fetal bovino inactivado por calor, en ausencia y en presencia de las fracciones Kupchan a la concentración de 250 μ g/mL, en placas de microtitulación de fondo plano de 96 pocillos, y tras 72 h de incubación a 37 °C en atmósfera humidificada de aire/CO₂ (19/1) se realizó el ensayo XTT. Las mediciones se **efectuaron** por triplicado, y cada experimento se repitió tres veces. Para cada fracción Kupchan se determinó el porcentaje de inhibición en la proliferación celular con respecto a los controles no tratados.

Purificación de compuestos

La purificación se realizó mediante el uso de diversas técnicas de cromatografía empleando protocolos que incluyeron el método Kupchan, columnas abiertas con resinas de exclusión molecular (SEPHADEX LH-20); **lo anterior permitió** la separación de los compuestos **con base en** su tamaño molecular, cromatografía en columnas por gravedad y de media presión de fase normal (Silica gel) y de fase reversa (RP-18) **lo que nos permitió** separar los compuestos **con base en** la polaridad de **sus** grupos funcionales. Las purificaciones finales se realizaron mediante un equipo de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC en inglés) con un detector de UV. Así, se obtuvieron los compuestos escuaminas C-F (**1-4**) aislados de *A. globiflora* y rolliniastatina 2 (**5**), y bullatacinona (**6**) aislados de *A. scleroderma* (**Figura 1**).

Resultados

Para explorar el potencial citotóxico de las semillas de *A. scleroderma* y *A. globiflora*, se estableció el efecto de sus fracciones Kupchan: Hex, DCM, AcOEt y MeOH:H₂O a una concentración de 250 μ g/mL, sobre la proliferación de cinco líneas celulares de cáncer humano. Los resultados son expresados como porcentaje de crecimiento (PC %) tras 72 h de exposición, aplicando el protocolo del Instituto Nacional del Cáncer de EUA (NCI) (Cen-Pacheco *et al.*, 2019). En

términos generales, los resultados revelaron que los extractos crudos (MeOH) y las fracciones de diclorometano (DCM) mostraron las mejores actividades frente a las cinco líneas celulares (entre 92 y 78% de inhibición del crecimiento) (**Figura 4**). Con base en estos resultados, se realizó un estudio químico de estas fracciones, que permitió el aislamiento de seis compuestos puros: escuaminas C-F (**1-4**) aislados de *A. globiflora*, rolliniastatina 2 (**5**) y bullatacinona (**6**), aislados de *A. scleroderma* (**Figura 1**). Todas las estructuras de estos compuestos fueron establecidas principalmente por técnicas de Resonancia Magnética Nuclear. Los compuestos escuaminas C-F (**1-4**) mostraron una significativa actividad citotóxica contra la línea celular cancerosa DU-145 (cáncer de próstata humano) (Sosa-Rueda *et al.*, 2022), mientras que rolliniastatina 2 (**5**) y bullatacinona (**6**) son dos conocidas acetogeninas con actividad citotóxica contra varias líneas cancerígenas (Rupprecht *et al.*, 1990) (**Figura 5**). Sin embargo, las cantidades aisladas fueron insuficientes para su ensayo contra las líneas celulares HBL-100, HeLa, SW1573, T-47D y WiDr.

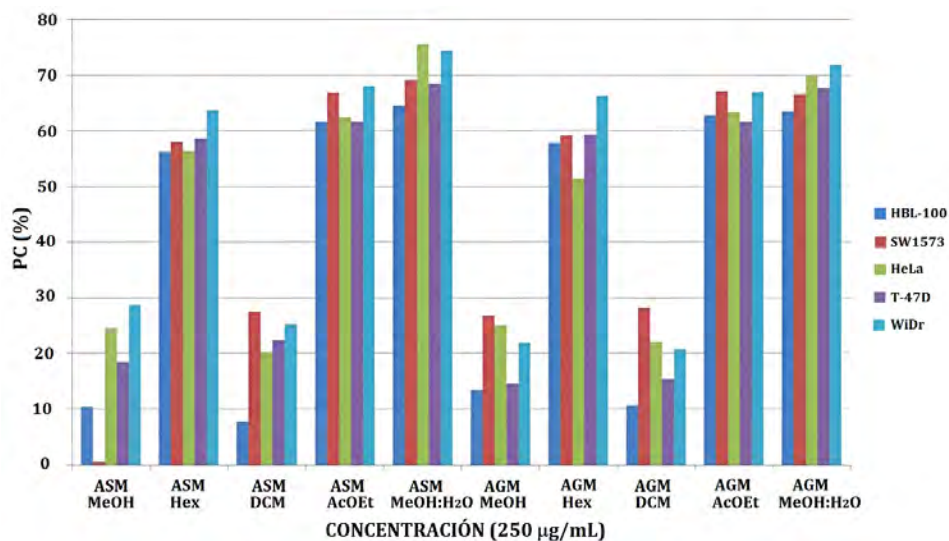


Figura 4. Actividad citotóxica de las fracciones Kupchan de *A. scleroderma* y *A. globiflora* frente a cinco líneas cancerígenas humanas.

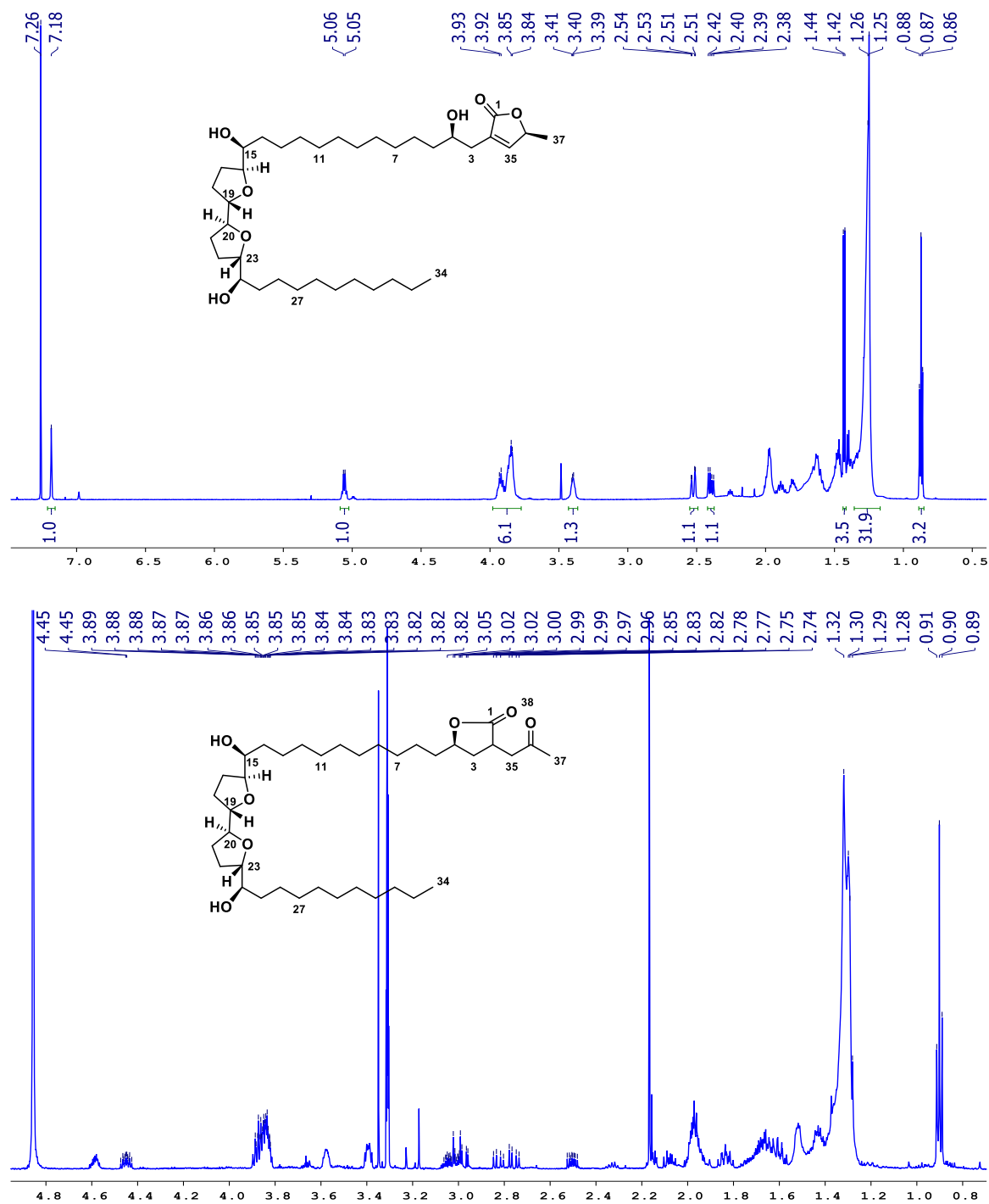


Figura 5. Espectros de RMN 1H de los compuestos rolliniastatina 2 (5) y bullatacinona (6).

Discusión

El extracto crudo de las semillas de *A. scleroderma* y *A. globiflora* mostró una actividad relevante, **por lo que se fraccionó** utilizando el método de Kupchan. Así, las fracciones de DCM que son de polaridad media, **son** las que mostraron las mejores actividades; por tanto, estos resultados sugieren la presencia de compuestos citotóxicos de polaridad media. Lo anterior es de gran importancia en el estudio etnofarmacológico de estas dos especies, ya que el uso de extractos polares y de baja polaridad de estas plantas, aparentemente diluiría los compuestos activos, generando así una pérdida en la actividad citotóxica. **Lo anterior** es evidente si se considera que la solubilidad es una de las propiedades más importantes en el descubrimiento y desarrollo de fármacos, ya **que esta última** interviene en la farmacodinámica, farmacocinética y toxicidad de **gran cantidad de** compuestos (Kadela-Tomanek *et al.*, 2021). La actividad citotóxica *in vitro* de las fracciones DCM de *A. scleroderma* y *A. globiflora* posiblemente esté relacionada con la presencia de acetogeninas y/o ciclopéptidos, principales constituyentes químicos de la familia Annonaceae, que **poseen** potentes actividades citotóxicas contra una variedad de líneas celulares (Dahiya & Dahiya *et al.*, 2021). Estos resultados concuerdan con la actividad citotóxica que muestran los ciclopéptidos, escuaminas C-F (**1-4**), contra las líneas celulares DU-145 (cáncer de próstata) y HeLa (carcinoma cervical humano) en el rango de 8–25 μM , **mismas que** aislamos de *A. globiflora* (Sosa-Rueda *et al.*, 2022). Sin embargo, las cantidades aisladas fueron insuficientes

para probarlas en otras líneas celulares. Por otro lado, de la purificación de la fracción de diclorometano de *A. globiflora*, **fue posible** aislar los compuestos puros rollinias-tatina 2 (**5**) y bullatacinona (**6**) (**Figura 1**), compuestos que, **estudios anteriores, han mostrado** su potente actividad citotóxica contra otras líneas celulares (Anaya-Esparza *et al.*, 2021). En este caso, también se aisló poca cantidad de los compuestos y **no fue posible** determinar su actividad citotóxica contra las cinco líneas celulares en las que evaluamos las fracciones Kupchan.

Conclusiones

Las evaluaciones de las fracciones Kupchan (Hex, DCM, AcOEt y MeOH:H₂O) de *A. scleroderma* y *A. globiflora* contra cinco líneas celulares de cáncer humano: HBL-100 (células epiteliales de mama, con potencial cancerígeno); HeLa (cáncer cervicouterino); SW1573 (cáncer de pulmón no microcítico); T-47D (células de cáncer de mama), y WiDr (células de cáncer de colon), indican que las fracciones de DCM de estas especies poseen una notable actividad contra las cinco líneas cancerígenas, mientras que todas las demás fracciones Kupchan evaluadas mostraron poca actividad (<50% de inhibición). Por tanto, es evidente que las fracciones activas de estas plantas (*A. globiflora* y *A. scleroderma*) tienen un gran potencial para ser estudiadas **para** aislar compuestos citotóxicos que podrían sentar las bases para **del** desarrollo de nuevos fármacos anticancerígenos. Del estudio de estas plantas, ya se han

aislado seis compuestos con una notable actividad citotóxica contra otras líneas celulares: escuaminas C-F (**1-4**), rolliniastatina 2 (**5**) y bullatacinona (**6**). Desafortunadamente, las cantidades aisladas fueron insuficientes para **su** ensayo contra las cinco líneas cancerígenas utilizadas en este trabajo. En este sentido, se pretende realizar una nueva recolección de *A. scleroderma* y *A. globiflora* y **así** obtener **bastante** material vegetal de partida. **Lo anterior permitiría** aislar cantidades suficientes de los compuestos puros para evaluar y determinar si estas moléculas poseen una selectividad **hacia** alguna de las cinco líneas celulares ensayadas o, por el contrario, tienen una actividad citotóxica de amplio espectro.

Referencias

- Alonso-Castro, A. J., Villarreal, M. L., Salazar-Olivo, L. A., Gomez-Sanchez, M., Dominguez, F., Garcia-Carranca, A. (2010). Mexican medicinal plants used for cancer treatment: pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies. *Journal of Ethnopharmacology* 133(3), 945-72. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.11.055>
- Anaya-Esparza, L. M., García-Magaña, M. L., Domínguez-Ávila, J. A., Yahia, E. M., Salazar-López, N. J., González-Aguilar, G. A., Montalvo-González, E. (2020). Annonas: underutilized species as a potential source of bioactive compounds. *Food Research International* 138, 109775. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109775>
- Bye, R., Linares, E., Estrada, E. (1995) Biological diversity of medicinal plants in México. En: Arnason JT, Mata R, Romeo JT. (eds) *Phytochemistry of Medicinal Plants. Recent Advances in Phytochemistry (Proceedings of the Phytochemical Society of North America)* vol 29, Boston, MA. Recuperado de: https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1778-2_4
- Çankaya, N., Yalçın, S., Turan, N. J. (2021). Preparation of poly (MPAE-MA)/halloysite nanocomposites and investigation of antiproliferative activity. *Journal of the Mexican Chemical Society* 65(2), 189-201. Recuperado de: <https://doi.org/10.29356/jmcs.v65i2.1257>

- Cen-Pacheco, F., Valerio-Alfaro, G., Santos-Luna, D., Fernández, J. J. (2019) Sclerin, a new cytotoxic cyclonapeptide from *Annona scleroderma*. *Molecules* 24(3), 554. Recuperado de: <https://doi.org/10.3390/molecules24030554>
- Dahiya, R., Dahiya, S. (2021). Natural bioeffective cyclooligopeptides from plant seeds of *Annona* genus. *European Journal of Medicinal Chemistry* 214, 113221. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113221>
- Eskens, F. A. L. M., Verweij, J. (2000). Clinical studies in the development of new anticancer agents exhibiting growth inhibition in models: facing the challenge of a proper study design. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 34, 83-88. Recuperado de: [https://doi.org/10.1016/s1040-8428\(00\)00055-x](https://doi.org/10.1016/s1040-8428(00)00055-x)
- Ferlay, J., Ervik, M., Lam, F., Colombet, M., Mery, L., Piñeros, M. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon: Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer. Recuperado de: <https://gco.iarc.fr/today>
- Gonzalez-Angulo, A. M., Morales-Vasquez, F., Hortobagyi, G. N. (2007). Overview of resistance to systemic therapy in patients with breast cancer. *Experimental Medicine and Biology* 608, 1-22. Recuperado de: https://doi.org/10.1007/978-0-387-74039-3_1
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Características de las defunciones registradas en México durante 2020. Recuperado de: <https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2021/EstSociodemo/DefuncionesRegistradas2020preliminar.pdf>
- Jacobo-Herrera, N. J., Jacobo-Herrera, F. E., Zentella-Dehesa, A., Andrade-Cetto, A., Heinrich, M., Pérez-Plasencia, C. (2015). Medicinal plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of colorectal cancer. *Journal of Ethnopharmacology* 179, 391-402. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.12.042>
- Kadela-Tomanek, M., Jastrzębska, M., Chrobak, E., Bębenek, E., Boryczka, S. (2021). Chromatographic and computational screening of lipophilicity and pharmacokinetics of newly synthesized betulin-1,4-quinone hybrids. *Processes* 9, 376. Recuperado de: <https://doi.org/10.3390/pr9020376>

- Kupchan, S. M., Tsou, G., Sigel, C. W. (1973). Datiscacin, a novel cytotoxic cucurbitacin 20-acetate from *Datisca glomerata*. *Journal of Organic Chemistry* **38**(7), 1420-1421. Recuperado de: <https://doi.org/10.1021/jo00947a041>
- Menezes, R. P. B., Sessions, Z., Muratov, E., Scotti, L., Scotti, M. T. (2021) Secondary metabolites extracted from Annonaceae and chemotaxonomy study of terpenoids. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **32**(11), 2061-2070. Recuperado de: <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20210097>
- Newman, D. J., Cragg, G. M. (2016). Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products* **79**(3), 629-661. Recuperado de: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b01055>
- Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE iLibrary). Panorama de la Salud: Latinoamérica y el Caribe 2020. Recuperado de: <https://www.oecd-ilibrary.org/sites/713d147a-es/index.html?itemId=/content/component/713d147a-es>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). Cáncer. Recuperado de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). Cáncer. Recuperado de: <https://www.paho.org/es/temas/cancer>
- Ortiz-Celiseo, A., Valerio-Alfaro, G., Sosa-Rueda, J., López-Fentanes, F. C., Domínguez-Meléndez, V., Cen-Pacheco, F. (2021). Ectyoplasin, a novel cytotoxic cyclic peptide from *Ectyoplasia ferox* sponge. *Natural Product Research* Published online. Recuperado de: <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1902326>
- Rupprecht, J. K., Hui, Y. H., McLaughlin, J. L. (1990) Annonaceous acetogenins: a review. *Journal of Natural Products* **53**(2), 237-78. Recuperado de: <https://doi.org/10.1021/np50068a001>
- Sociedad Mexicana de Oncología A.C. (SMeO). Prevención y diagnóstico oportuno en cáncer. Recuperado de: https://www.smeo.org.mx/descargables/COPREDOC_GUIA.pdf
- Sosa-Rueda, J., Domínguez-Meléndez, V., Ortiz-Celiseo, A., López-Fentanes, F. C., Cuadrado, C., Fernández, J. J., Hernández-Daranas, A., Cen-Pacheco, F. (2022) Squamins C-F, four cyclopeptides from the seeds of *Annona globiflora*. *Phytochemistry* **194**, 112839. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2021.112839>

Vanwagenen, B. C., Larsen, R., Cardellina II, J. H., Randazzo, D., Lidert, Z. C., Swithenbank, C. (1993). Ulosantoin, a potent insecticide from the sponge *Ulosa ruetzler*. *Journal of Organic Chemistry* 58, 335-337. Recuperado de: <https://doi.org/10.1021/jo00054a013>

Villareal Ortega, M. L. (2008). Plantas contra el cáncer. *Hypatia*. No. 25. Recuperado de: <https://revistahypatia.org/biotecnologia-revista-25.html>