

20
Lej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTINEOPLASICA
DE UN COMPONENTE DE LA *SALVIA PUBESCENS*
BENTH (7α -ACETOXIROYLEANONA), EN CULTIVO
DE LINFOCITOS HUMANOS COMO SISTEMA
DE PRUEBA

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

LAURA HOLGUIN HERRERA



MEXICO, D. F.

1999

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

27/11/61



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado designado:

PRESIDENTE	Prof. Baldomero Esquivel Rodríguez
VOCAL	Profra. Alicia Cervantes Peredo
SECRETARIO	Prof. Emilio Rojas del Castillo
1er. SUPLENTE	Prof. Francisco Hernández Luis
2do. SUPLENTE	Prof. Carlos Pérez Muñoz

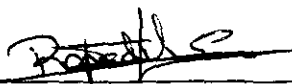
Lugar donde se desarrolló el tema:

Departamento de Toxicología y Genética Ambiental

Instituto de Investigaciones Biomédicas

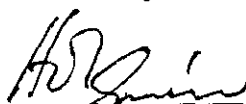
Universidad Nacional Autónoma de México

Asesor del tema



Dr. Emilio Rojas del Castillo

Sustentante



Laura Holguín Herrera

AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

Por permitirme vivir hasta este día y guiarme para la finalización de este objetivo. Por darme una maravillosa familia, por haberme rodeado de tanto amor, por cuidar cada uno de mis pasos.

A MIS PADRES:

Por darme la vida, por tantos sacrificios hechos para lograr hacer de mi y de Erika personas de bien. Por ser amigos, por ser padres, por estar *conmigo* en cada momento de mi vida, por sus cuidados, por su ternura, por su ejemplo, por sus enseñanzas, por su apoyo en cada uno de mis sueños y por tantas cosas y momentos que no podría mencionarlos. Porque sé que uno de los principales objetivos en sus vidas somos nosotras y espero lograr corresponderles siempre.

A MI HERMANA ERIKA:

Por ser mi hermana, por escucharme cuando lo necesito, por darme algún consejo, por enfrentarte con coraje a la vida, por su fuerza y ganas de ser cada día mejor. Porque eres una de las personas con más impulso que conozco y de la que he aprendido mucho. Por todo el cariño y apoyo que siempre he recibido de ti. Porque a pesar de ser tan diferentes y tan parecidas a la vez, hemos logrado tener una relación de cariño y respeto en la cual somos partícipes de nuestros triunfos y fracasos.

A MI FAMILIA:

Por estar siempre tan unida, por darme tantos momentos felices y por su apoyo y cariño en cada momento. Me siento orgullosa de pertenecer a ustedes que siempre están al pie del cañón cuando se ha tenido que solucionar algún problema. Por que para ustedes no existe imposible cuando se trata de defender o proteger a los suyos. Por que es una de las familias mas hermosas que conozco.

A TI AMOR:

Por todo el cariño que me has dado, por ser amigo y pareja, por escuchar siempre, por tu apoyo, por respetar y aceptar mi forma de ser, por tantos momentos felices y por enriquecer mi vida. Por dejarme compartir este tiempo contigo, por tu confianza, por hacerme participe de tus sueños y secretos. Por tu amor.

A MIS AMIGOS:

Por que forman una parte fundamental de mí. Por estar siempre conmigo, por que han llegado a ser como mi familia. Por compartir tantos momentos felices y dificiles. Por tantos años de apoyo, por que sé que estarán ahí a lo largo de mi vida al igual que yo de las suyas.

A MI UNIVERSIDAD:

Por el orgullo que siento de pertenecer a ella. Por convertirse en mi segunda casa durante todo el tiempo de estancia en ella. Por que me dió la oportunidad de llevar a cabo este proyecto, por permitirme conocer a tanta gente valiosa. Por darme tantos conocimientos invaluable que son cimientto e impulso para lograr mis metas.

**AL EQUIPO DE TRABAJO DEL INSTITUTO
DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS:**

Por su amistad, sus enseñanzas y paciencia para llevar a cabo la realización de esta tesis. Por su apoyo en cada momento, por haber compartido conmigo todo este tiempo. Por que en este lugar he encontrado personas realmente valiosas, grandes amigos y compañeros. Por que fueron el primer acercamiento que tuve al mundo fuera de las aulas.

A EMILIO ROJAS:

Por que mas que un director de tesis has sido un amigo. Por que siempre recibí de tí una mano cálida y todo el apoyo y confianza. Por todas tus enseñanzas, por tu ternura y tu buen humor. Por todo el respeto y admiración que me mereces.

A SERGIO MORALES:

Por que a pesar de tener poco tiempo de conocernos, me has brindado a manos llenas tu apoyo y amistad. Por todos los consejos dados y por la orientación. Por contagiarme tus ganas de vivir y de crecer. Por la admiración y respeto que me mereces.

**AL EQUIPO DE TRABAJO
DE SCHERING PLOUGH:**

Por su apoyo en la finalización de esta tesis. Por permitirme pertenecer a este hermoso grupo de trabajo. Por todas sus enseñanzas y su cariño. Espero poder colaborar con ustedes durante un largo tiempo y que me haga merecedora de su amistad.

A MIS MAESTROS:

A todos aquéllos profesores de los que tuve el honor de aprender, no sólo cuestiones académicas, sino que han brindado en repetidas ocasiones algún consejo y dirección a mis pasos. Les agradezco infinitamente todas sus enseñanzas pues estas son la mejor la mejor arma que pudieron darme para enfrentar la vida.. En este momento quisiera agradecer especialmente a mis sinodales por ayudarme a presentar hoy mi tesis,

A LOS COMPAÑEROS Y AMIGOS DE LA GENERACIÓN 94:

Les agradezco que hayan sido mis amigos y que me otorgaran su cariño sincero a lo largo de la carrera. Por darme una sonrisa cada vez que recorriamos con prisa los pasillos de la Facultad. Por todos esos fracasos y triunfos que compartimos cada día. Por que formarán parte de un recuerdo inolvidable de una de las épocas mas felices de mi vida.

A MIS "VOLUNTARIOS":

Por donarme un poco de su sangre cada vez que lo necesité. Perdón por los piquetes y las molestias y gracias por su apoyo para la realización de este trabajo.

**Un agradecimiento especial al
fideicomiso del proyecto
“Desarrollo de Medicamentos Antineoplásicos”
Por su apoyo económico en la realización de este trabajo.**

índice

Páginas

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	3
III. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN	35
IV. OBJETIVOS	42
V. DISEÑO EXPERIMENTAL	43
VI. MATERIAL Y MÉTODOS	44
VII. TECNICAS DE ANÁLISIS	47
VIII. RESULTADOS	49
IX. DISCUSIÓN	53
X. CONCLUSIONES	55
XI. BIBLIOGRAFÍA	56
XII. TABLAS	62
XIII. GRÁFICAS	69

I. RESUMEN

Al cáncer se le conoce a nivel mundial como un problema importante de salud pública, debido a las frecuencias tan altas que ha alcanzado, a su impacto económico y a su trascendencia social. México no es la excepción, y se enfrenta con la necesidad de importar los productos para el tratamiento, y esto hace que el costo del mismo sea muy elevado.

Debido a esto, surge la necesidad de buscar nuevos agentes químicos para el tratamiento de esta enfermedad, que posean un amplio espectro de actividad antitumoral y con menor toxicidad que los agentes usados actualmente.

En cuanto a recursos vegetales, México es uno de los países de mayor riqueza en el mundo, está representado prácticamente todos los tipos de vegetación conocidos y su aporte a la herbolaria se calcula -muy conservadoramente- en más de 5,000 especies vegetales con uso medicinal.

Entre las familias mas importantes de la flora mexicana destaca la familia de las labiadas. Biológicamente esta familia es interesante debido a las diversas propiedades que presentan algunos compuestos aislados de ciertas especies, propiedades como: antitumorales, antimicrobianas , espasmolíticas, sedativas, bactericidas, antivirales y repelentes a insectos.

En el suroeste de la República Mexicana se localiza la especie vegetal *Salvia pubescens* Benth. De esta planta se lograron aislar varios compuestos y la Escuela de Farmacia de la Universidad de Purdue en Estados Unidos, detectó como un agente con posible actividad antineoplásica a la 7a-acetoxiroyleanona.

El propósito de este trabajo fué determinar la capacidad antineoplásica de la 7a-acetoxiroyleanona mediante la evaluación de la citotoxicidad y/o citostaticidad en cultivo de linfocitos de sangre periférica humana *in vitro*. Se usaron como parámetros al índice mitótico

(citotoxicidad), cinética de proliferación celular (citostaticidad). Finalmente se hizo una comparación del comportamiento de la 7a-acetoxiroleanona en el sistema con antineoplásicos de referencia.

En base a los resultados de IM y CPC para la 7a-acetoxiroleanona, podemos decir que éste es un agente tanto citotóxico como citostático. Se sabe que los fármacos que comparten la característica de interactuar directamente con el ADN, independientemente del mecanismo de acción, se comportan de esta manera. Esto nos lleva a pensar que la 7a-acetoxiroleanona posiblemente actúe directamente sobre el ADN.

En base a los resultados de IM, podemos ver que la 7a-acetoxiroleanona presenta una citotoxicidad mayor al 5-fluorouracilo y 6-mercaptopurina; y menor a cisplatino, casiopeína 2, melfalán, casiopeína 1, mitomicina C y bleomicina.

En cuanto a citostaticidad, observamos que la 7a-acetoxiroleanona presenta una citostaticidad ligeramente mayor que el cis-platino y menor a la casiopeína 2, melfalán, casiopeína 1, mitomicina C y bleomicina.

En base a la semejanza de las pendientes de la 7a-acetoxiroleanona con el melfalán en las gráficas de IR vs IIM, podríamos pensar que tal vez sus mecanismos de acción sean parecidos. Esta podría ser una base para arrancar la búsqueda del mecanismo de acción de este compuesto.

II. INTRODUCCIÓN

- **El cáncer**

En la mayoría de los países desarrollados la mortalidad por las principales neoplasias malignas muestra, durante los últimos años, una reducción en la magnitud de sus tendencias crecientes. Sin embargo, el perfil de la mortalidad por cáncer en las naciones menos desarrolladas presenta todavía un claro patrón ascendente. México no es la excepción y las tasas de mortalidad por cáncer muestran una marcada tendencia creciente en las últimas décadas, lo cual constituye un enorme reto para las instituciones de salud (Salmerón et al. 1997).

El cáncer puede considerarse como un grupo muy heterogéneo de padecimientos, de origen multifactorial, relacionados por la manera en que se desarrollan, se diseminan y por su conducta biológica, que puede conducir a la muerte del huésped. Las causas primarias del cáncer aún deben determinarse; sin embargo, resultan de la interrelación de múltiples factores del medio, desencadenados por diversas causas, en un huésped genéticamente susceptible (Uribe, 1995).

La enfermedad que denominamos cáncer se define por cuatro características que describen la forma en que las células cancerosas actúan de un modo distinto a las células normales de las que proceden:

Estas propiedades pueden ser expresadas por las células normales no malignas durante épocas adecuadas, por ejemplo, durante la embriogénesis y la cicatrización de las heridas; no obstante en las células cancerosas estas características tienen un grado inapropiado y excesivo. Los tumores benignos son clonales y tienen un cierto grado de autonomía, pero permanecen diferenciados y no se metastatizan. El proceso mediante el que una célula normal se convierte en una célula maligna que presente estas características se denomina *transformación maligna* (Benítez-Bribiesca, 1987).

Neoplasia se define como una multiplicación celular incontrolada e irreversible, desencadenada por diversas causas. Las neoplasias manifiestan su biología en dos formas:

- a) Aquéllas con un límite máximo de crecimiento que sólo en muy contadas excepciones ponen en peligro la vida de los pacientes.
- b) Cuando la multiplicación celular no tiene un límite máximo de crecimiento e irremediablemente lleva a estos sujetos a la muerte, como consecuencia de las capacidades de invasión, destrucción y diseminación a distancia del crecimiento neoplásico.

A la primera situación se le denomina neoplasia benigna y a la segunda neoplasia maligna o cáncer. Dado que los cambios neoplásicos se pueden originar en las células de la mayor parte de los tejidos, esto le confiere una gran diversidad tanto en el aspecto clínico como en el comportamiento biológico, así como en el tratamiento (Bishop M., 1987).

- **Diseminación de las neoplasias**

Los cánceres se diseminan a través de las zonas de menor resistencia. Hay estructuras que representan barreras naturales como las cápsulas de algunos órganos, fascias, periostio, tejido fibroso, cartílago y paredes arteriales (Killion J.J., Fidler I.J, 1989).

En esta primera fase intervienen mecanismos de comprensión tisular, pérdida de la inhibición por contacto y liberación de enzimas que dañan las células no neoplásicas y lisan el tejido conectivo. Los cambios previamente descritos inician el proceso que corresponderá al crecimiento a distancia del tumor maligno. Hay una cadena de acontecimientos que se inicia con una separación de las células del tumor primario, con invasión de vasos linfáticos, vasos sanguíneos o ambas cosas. El tumor se disemina hacia ganglios linfáticos y otros órganos cercanos o distantes, para que las células neoplásicas atraviesen las paredes vasculares, penetren y

se multipliquen en estos tejidos diferentes al sitio primario. A este proceso se le conoce como **metástasis** (Harrison, 1994).

Tabla 1. Diferencia entre neoplasias benignas y malignas

Benignas	Malignas
Crecimiento expansivo que comprime los tejidos a su alrededor	Crecimiento que infiltra y destruye los tejidos vecinos
Bajo número de mitosis	Alto número de mitosis
Tejido bien diferenciado	Tejido poco diferenciado
Sin metástasis	Metástasis

• **Mecanismo de la transformación neoplásica y proliferación tumoral**

Las células malignas están asociadas con la eliminación de los mecanismos reguladores normales que controlan el crecimiento celular, entre ellos la inhibición por contacto (inhibición del crecimiento celular ante el contacto célula-célula) y la muerte celular programada (apoptosis). El crecimiento neoplásico está regido por la cinética gompertzeciana (el tiempo de duplicación aumenta y la fracción de células en división disminuye en forma exponencial con el aumento de la masa tumoral). La mayor fracción de crecimiento se produce aproximadamente al alcanzar el 37% de la máxima división del tumor (Cairns J., 1981).

Debido a que todas las células de un organismo se originan a partir de un único huevo fecundado (cigoto), todas ellas poseen una información genética idéntica. La proliferación y diferenciación de esta célula hacia la formación de un embrión, y finalmente hacia el desarrollo de un organismo maduro, implica la expresión selectiva y coordinada del repertorio genómico (Dulbecco R., 1984). El control de la expresión genética se consigue mediante interacciones moleculares poco conocidas que pueden ser moduladas, en parte, por influencias químicas del ambiente. En el caso de los tumores, el proceso normal de control aparece alterado debido a las actividades anómalas de un grupo concreto de genes que tienen una importancia básica en la regulación de las actividades celulares. A un grupo de estos genes se les conoce con el nombre de oncogenes (Ocadiz, R. et al, 1987). Son genes que pueden producir transformación maligna cuando se expresan de forma inadecuada debido a mutación, a amplificación o a nueva disposición (Adams J., 1990).

La familia de oncogenes está formada por unos 50 genes que directamente intervienen en la aparición y evolución del cáncer. La versión normal del oncogén (la que se encuentra en una célula normal) es el proto-oncogén. Estos genes desempeñan funciones muy importantes en el crecimiento y proliferación de la célula (Bishop, J. M., 1983).

La proliferación descontrolada de proteínas proto-oncogénicas de localización nuclear, puede producir inmortalidad en las células y, por lo tanto, su reproducción indefinida, lo que no sucede en las células normales, cuya capacidad de división es limitada. Sin embargo, la immortalización por si sola no vuelve cancerosa a una célula, sino que es necesaria la participación de al menos otro oncogén para que se produzcan las respuestas que caracterizan al estado canceroso (Sauceda, R. et al 1988).

Además de las alteraciones moleculares de los proto-oncogenes celulares, existen algunos virus que se han asociado con el cáncer humano, como los virus del linfoma de células T humanas (VLTH-I y VLTH-II) relacionados con la leucemia, el virus del Herpes Simple (VHS-2) al cual desde hace algún tiempo se le ha implicado con el cáncer genital, el virus de la hepatitis

tipo B, asociado con el hepatocarcinoma y algunos tipos del virus papiloma humano (VPH) asociados con cáncer genital (Gariglio, P. et al, 1987).

Hay algunas neoplasias que se presentan con un patrón de comportamiento concordante con alteraciones genéticas recesivas, es decir, deben estar afectados ambos alelos para que se produzca la neoplasia. Genes de este tipo se han llamado supresores del tumor (o antioncogenes) Burck K.B. et al, 1988). A diferencia, en los oncogenes el comportamiento es dominante, es decir, basta un alelo anormal para desencadenar la transformación. Los prototipos de estas neoplasias son el retinoblastoma (RB), el tumor de Wilms (TW) y neurofibroma. Se cree que algunos anti-oncogenes tienen una importante función regulatoria en el proceso general de proliferación y de diferenciación celular (Drucker B.J. et al, 1989).

En conclusión, el desarrollo de un tumor requiere de varias etapas, en las cuales intervienen mutaciones tanto en oncogenes como en antioncogenes; un aspecto importante es que la acumulación de dichos cambios, en lugar del orden relativo en que ocurren las mutaciones, es lo que determina las propiedades biológicas del tumor (Sager, R., 1989).

• Tratamiento del cáncer

Para el tratamiento, la ciencia dispone clásicamente de las siguientes armas: cirugía oncológica radioterapia, tratamiento hormonal, inmunomoduladores y quimioterapia. Sin embargo no siempre es exitoso el tratamiento y sólo en algunos casos se logra la cura del paciente. Además de esto, existen países que no cuentan con los recursos económicos para un tratamiento médico adecuado de su población (Cameron, 1995).

a) Cirugía oncológica

Actualmente, la cirugía sigue siendo el método que ofrece en forma aislada la mejor oportunidad de curación del cáncer, y tiene lugar importante e impresionante en la terapéutica

oncológica. Este papel tiene importancia histórica, ya que hasta el desarrollo de la radioterapia a principios de este siglo y del tratamiento sistemático con hormonas y fármacos iniciado en los tres decenios pasados, la cirugía era el único método eficaz en el tratamiento del cáncer.

La cirugía tiene actualmente diferentes aplicaciones: curativa, reconstructiva, paliativa, citorreductiva, diagnóstica y preventiva (Harrison, 1994).

b) Radioterapia

La radioterapia es un método de tratamiento del cáncer que se basa en los efectos biológicos de la radiación ionizante sobre las células y los tejidos.

Los conocimientos científicos que explican estos efectos se han conocido desde 1895, año en que Roentgen descubrió los rayos X, y 1896 cuando Becquerel y Curie descubrieron las propiedades radiactivas del uranio y el radio. En la actualidad, la radiobiología forma un cuerpo bien desarrollado de conocimientos que sirven de base científica a la radioterapia (Uribe, 1995).

c) Tratamiento hormonal

Desde 1896 se ha sabido que variaciones en el equilibrio hormonal pueden modificar favorablemente la evolución de algunos tipos de cáncer. Desde entonces, la extirpación de algunas glándulas de secreción interna y/o la administración de hormonas se ha vinculado con mejorías en enfermedad con carcinoma de mama, endometrio, próstata, riñón y en algunas leucemias y linfomas.

Terapéutica hormonal supresiva. La extirpación quirúrgica de algunas glándulas se ha acompañado de mejoría clínica de algunas neoplasias avanzadas.

Terapéutica hormonal aditiva. Este término se refiere a la administración de hormonas y antihormonas. Estos agentes se utilizan en el tratamiento de varias neoplasias malignas, tanto en los casos tempranos como avanzados. Los medicamentos incluyen corticoides, estrógenos y antiestrógenos, progestágenos, andrógenos y antiandrógenos; los análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas hipofisarias y otros fármacos que sin ser hormonas o antihormonas, tienen efectos antitumorales importantes (Uribe, 1995).

d) Modificadores de la respuesta biológica

El término *modificadores de la respuesta biológica* se utiliza para indicar que estos agentes actúan alterando la respuesta del huésped al cáncer, en lugar de actuar por citotoxicidad directa

Algunas enfermedades hereditarias se relacionan con deficiencia del funcionamiento del sistema inmunitario. En estos pacientes la frecuencia de neoplasias malignas es de 200 a 400 veces mayor que en la población general. Lo anterior ha motivado el desarrollo y uso de sustancias capaces de modificar (modular) la respuesta inmunitaria y, por ende, de la actividad tumoral. El empleo de los modificadores biológicos sigue siendo experimental, a pesar de resultados favorables en algunas enfermedades como leucemias agudas, melanoma, linfomas y el carcinoma renal. También ha habido resultados favorables en neoplasias relacionadas con el SIDA (Harrison, 1994).

Uno de los primeros agentes utilizados para este fin fue el bacilo Calmette-Guerin (BCG), el cual, administrado con quimioterapia, produjo supervivencia considerablemente más prolongada en los grupos control de pacientes tratados sólo con quimioterapia. Después se emplearon otras sustancias capaces de estimular el sistema inmunitario, en forma inespecífica, como *Corynebacterium parvum*, levamisol (sustancia activa contra nemátodos) y análogos de

BCG. Se obtuvieron algunos éxitos terapéuticos en pocas enfermedades neoplásicas, pero además pudo demostrarse que la inmunostimulación podía acompañarse de remisión de la neoplasia.

En la actualidad, su indicación sigue siendo experimental con excepción del tratamiento de la tricoleucemia con interferón, que usualmente induce buenas remisiones. Los agentes con mayor interés son los anticuerpos monoclonales, las vacunas tumorales, el factor de crecimiento hematopoyético, la interleucina-2, los interferones y todavía del BCG y el levamisol (Uribe, 1995).

e) Quimioterapia

Con este término se designa el uso de fármacos que inhiben, a través de diferentes mecanismos, el crecimiento celular. No existe ninguna diferencia bioquímica entre las células malignas y las células normales de proliferación rápida (las de epitelio gastrointestinal, las de médula ósea, piel), en consecuencia, la quimioterapia afecta tanto a los tejidos neoplásicos como los normales lo que provoca efectos terapéuticos y tóxicos, respectivamente (Cameron, 1995).

Los agentes quimioterapéuticos suelen actuar durante una fase específica del ciclo celular y, en consecuencia, son agrupados en las siguientes categorías:

Agentes ciclo celular-inespecíficos.

Estos agentes son efectivos contra células en cualquier fase del ciclo, incluida G1, y son útiles en tumores que tienen baja actividad proliferativa.

Agentes ciclo celular-específicos.

Agentes específicos para la fase S. Los agentes químicos que bloquean la síntesis de purinas y pirimidinas y alteran la replicación normal del DNA, afectan a las células en fase S, en

las que existe una intensa replicación del DNA. Como esta fase es relativamente corta, exige una administración frecuente o continua, de modo que haya niveles adecuados del fármaco cuando la célula ingresa en esta fase. Además, los tumores con bajas velocidades de replicación (mínimo número de células en fase S) no suelen ser susceptibles a estos agentes.

Agentes específicos para la fase M. Los inhibidores microtubulares interfieren con la mitosis y bloquean la división celular en la fase M.

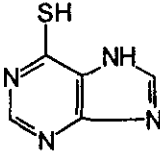
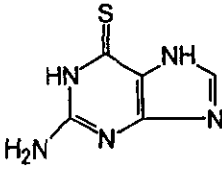
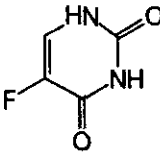
Otros. Algunos agentes bloquean la replicación celular en varios sitios (por ejemplo fase G2, etc.) y pueden actuar como agentes ciclo-específicos y ciclo-inespecíficos (Cameron, 1995).

Las clasificaciones comunes de los agentes quimioterapéuticos implican el mecanismo de acción antitumoral (cuadro II). Este método de clasificar a los agentes quimioterapéuticos es importante, dado que es posible combinar de manera racional productos químicos con diferentes modos de acción para potenciar los efectos antitumorales (Harrison, 1995).

Cuadro 1. Especificidad del ciclo celular de los agentes quimioterapéuticos

No específico	Específico del ciclo celular			
	Fase G1	Fase S	Fase G2	Fase M
Busulfán	Asparaginasa	Arabinósido de citosina (ARA-C)	Bleomicina	Vinblastina
Carboplatino		Floxuridina (FUdR)	Etopósido	Vincristina
Carmustina		Fluorouracilo		
Clorambucilo		Hidroxiurea		
Cisplatino		Mercaptopurina		
Ciclofosfamida		Metrotexato		
Dacarbazina (DTIC)		Tioguanina		
Dactinomicina				
Daunorrubicina				
Doxorrubicina				
Hemaxemetilmelamina				
Trietiléntiofosforamida				
Ifosfamida				
Lomustina (CCNU)				
Mecloretamina				
Melfalán				
Mitomicina-C				
Mitotano				
Mitoxantrona				
Pibobromán				
Plicamicina (mitramicina)				
Procarbazina				
Estreptozocina				
Uracil mostaza				

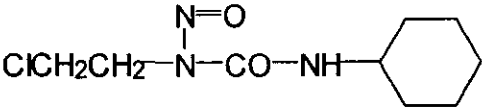
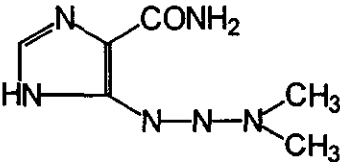
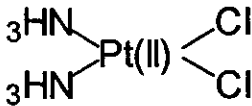
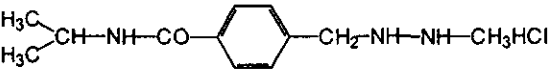
Cuadro II. Fármacos antineoplásicos

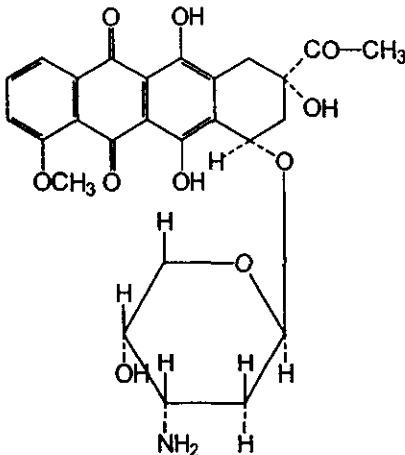
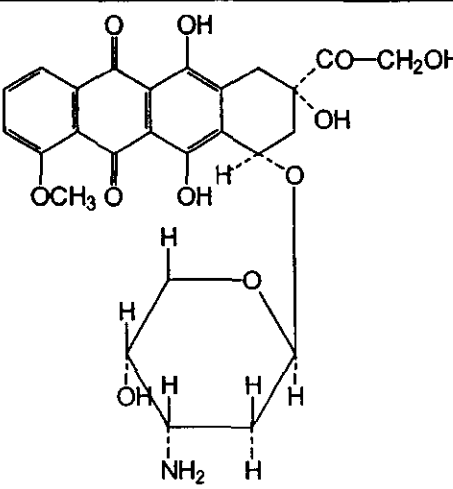
Clasificación	Fármaco	Estructura Química	Usos
ANTIMETABOLITOS	Mercaptopurina		Leucemia aguda, inactivo en tumores sólidos
	Tioguanina		Leucemia aguda, inactivo en tumores sólidos
	5-fluorouracilo		Procesos malignos gastrointestinales: carcinoma correctal, de estómago, esofágico, pancreático y en tratamiento combinado para carcinoma de <i>mama</i>

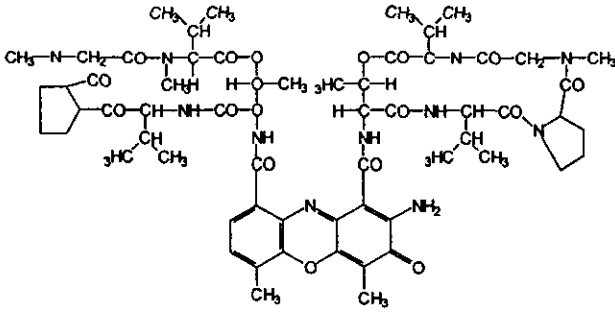
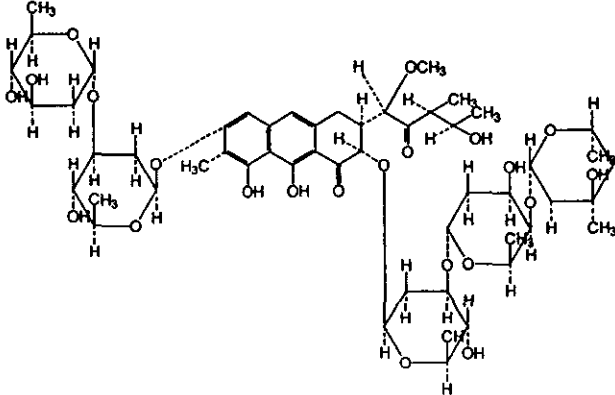
	Fármaco	Estructura Química	Usos
ANTIMETABOLITOS	Citarabina		Tratamiento de la leucemia mielogénica aguda, leucemia linfocítica aguda y en el linfoma no Hodgkin
	Mecloretamina o clometina	$\text{CH}_3\text{---HCl}$	Tratamiento de linfoma de Hodgkin y en derrames pleurales malignos
AGENTES ALQUILANTES	Tiotepa		Se utiliza en carcinomas de mama y de ovario

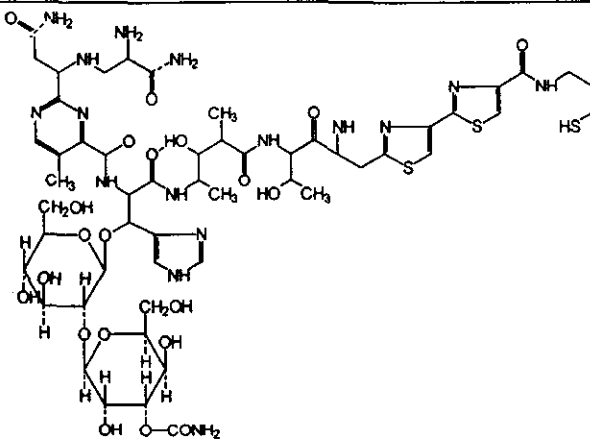
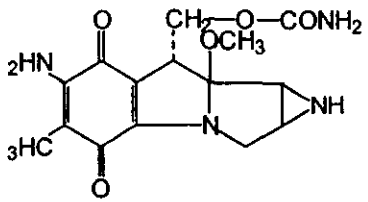
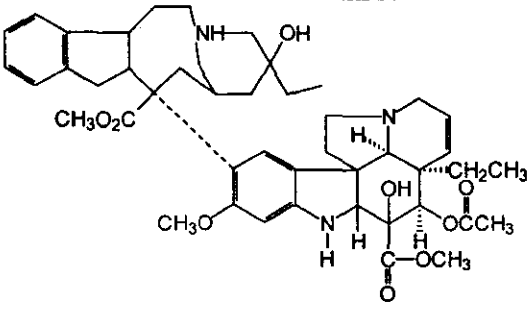
	Fármaco	Estructura Química	Usos
AGENTES ALQUILANTES	Ciclofosfamida		<p>Agente antitumoral de amplio espectro. Se utiliza para carcinoma de mama, de pulmón, de ovario, de vejiga, del linfoma no Hodgkin, en leucemias linfocíticas agudas y crónicas, sarcoma de hueso y de tejidos blandos y en tumores de la infancia como el de Wilms y el neuroblastoma.</p>
	Clorambucil		<p>Tratamiento de leucemia linfocítica crónica y de los linfomas de Hodgkin indolentes</p>

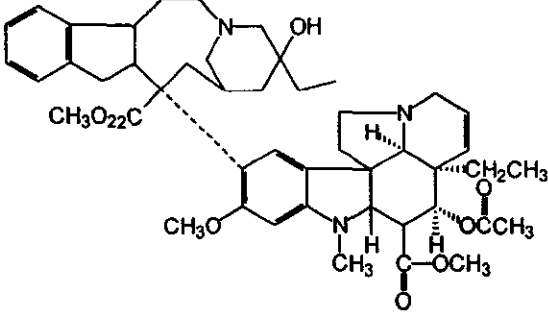
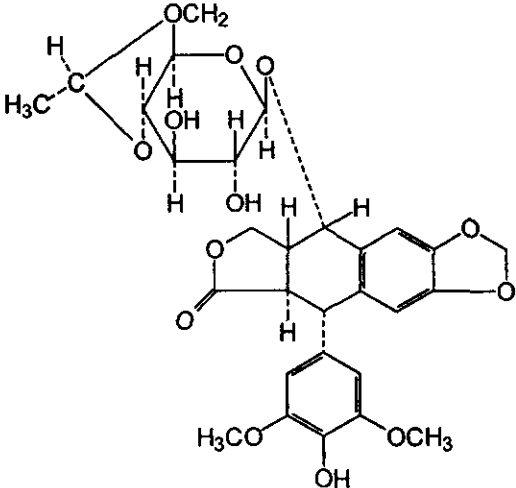
	Fármaco	Estructura Química	Usos
AGENTES ALQUILANTES	Melfalán	$\text{HOOC}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$	Amplia actividad antitumoral, pero se usa fundamentalmente en el tratamiento de mieloma múltiple y del carcinoma de ovario
	Busulfán	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\text{S}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\text{S}-\text{CH}_3 \end{array}$	Se utiliza en el tratamiento de los trastornos mieloproliferativos, entre ellos la leucemia mielógena crónica, y en las pautas preparatorias mieloablativas, previas al trasplante de médula ósea
	Carmustina	$\text{ClCH}_2\text{CH}_2-\underset{\text{N}=\text{O}}{\text{N}}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$	Neoplasias del sistema nervioso central, linfomas de Hodgkin y no Hodgkin

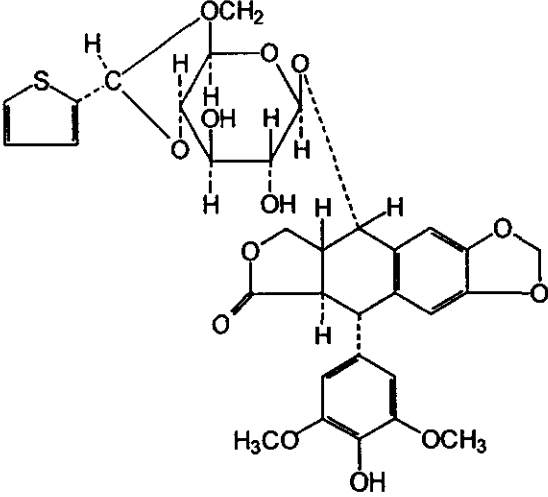
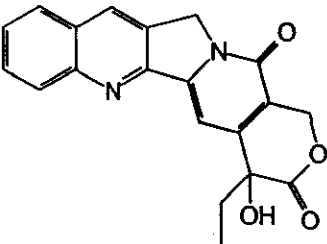
	Fármaco	Estructura Química	Usos
AGENTES ALQUILANTES	Lomustina		Neoplasias del sistema nervioso central, linfomas de Hodgkin y no Hodgkin
	Dacarbazina		Tratamiento del melanoma, en enfermedad de Hodgkin y en los sarcomas de tejidos blandos
METALES PESADOS	Cisplatino		Carcinomas testiculares, vesicales, de cabeza y cuello, ováricos y pulmonares
METILHIZINAS	Procarbazina		Tratamiento de los tumores cerebrales y de la enfermedad de Hodgkin

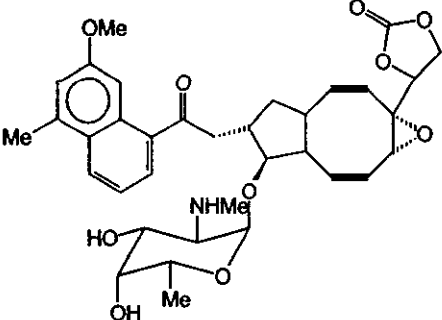
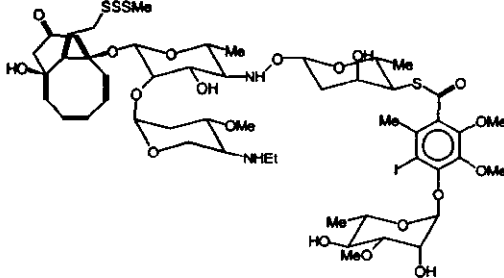
	Fármaco	Estructura Química	Usos
ANTIBIOTICOS ANTINEOPLASICOS	Daunorrubicina	 <p>The structure shows a tetracyclic aglycone core consisting of a phenanthrene system fused to a six-membered ring. The aglycone has a methoxy group (OCH₃) at position 10, a carbonyl group (C=O) at position 9, and hydroxyl groups (OH) at positions 1, 4, and 14. It is linked via a glycosidic bond to a D-glucopyranose sugar at position 13. The sugar has a primary amine group (NH₂) at the C2 position and a hydroxyl group (OH) at the C3 position.</p>	Tratamiento de leucemias linfocíticas agudas y mielogénicas
ANTIBIOTICOS ANTINEOPLASICOS	Adriamicina	 <p>The structure is similar to Daunorubicin, featuring the same tetracyclic aglycone core with a methoxy group (OCH₃) at position 10, a carbonyl group (C=O) at position 9, and hydroxyl groups (OH) at positions 1, 4, and 14. However, it is linked via a glycosidic bond to a D-glucopyranose sugar at position 13. The sugar has a primary amine group (NH₂) at the C2 position and a hydroxyl group (OH) at the C3 position. The aglycone has a hydroxyl group (OH) at position 13, which is linked to the C1 of the glucose sugar via an ether linkage, and a hydroxyl group (OH) at position 14, which is linked to the C2 of the glucose sugar via an ether linkage. The aglycone also has a hydroxyl group (OH) at position 13, which is linked to the C1 of the glucose sugar via an ether linkage, and a hydroxyl group (OH) at position 14, which is linked to the C2 of the glucose sugar via an ether linkage. The aglycone also has a hydroxyl group (OH) at position 13, which is linked to the C1 of the glucose sugar via an ether linkage, and a hydroxyl group (OH) at position 14, which is linked to the C2 of the glucose sugar via an ether linkage.</p>	Tratamiento de los carcinomas de mama, vejiga, pulmón, estómago, próstata y tiroides; de linfoma de Hodgkin y no Hodgkin; y de los sarcomas óseos y de tejidos blandos.

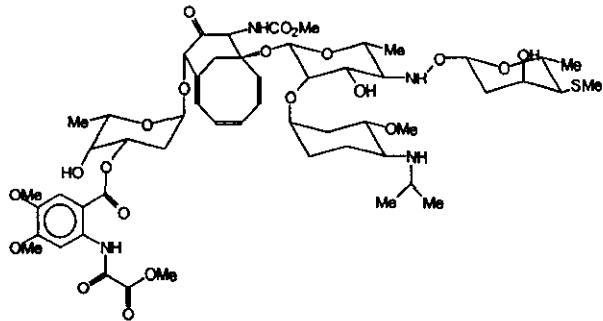
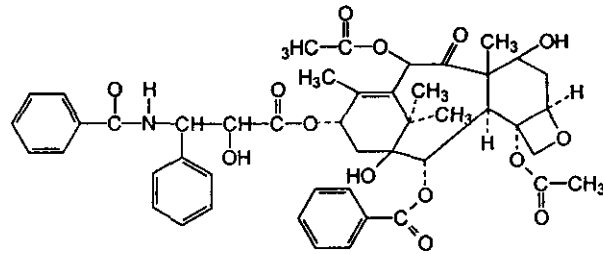
	Fármaco	Estructura Química	Usos
ANTIBIOTICOS ANTINEOPLASICOS	Actinomicina D	 <p>The structure shows a central chromophore consisting of a fused bicyclic system (a benzene ring fused to a pyridine ring, which is further fused to a six-membered ring containing an oxygen atom). This chromophore is substituted with a methyl group, a methylamino group, and a carbonyl group. Two peptide side chains are attached to the chromophore via amide bonds. Each side chain consists of a pentapeptide sequence: a methylamino group, a methylene group, a valine residue, a tryptophan residue, and a methylamino group. The tryptophan residues are linked to the chromophore through their indole rings.</p>	Tratamiento de redbomiosarcoma, del sarcoma de Ewing y del carcinoma trofoblástico de la gestación.
	Mitramicina	 <p>The structure shows a central anthracycline chromophore, which is a tetracyclic system consisting of a naphthalene ring fused to a six-membered ring containing a nitrogen atom, which is further fused to a six-membered ring containing an oxygen atom. This chromophore is substituted with a methyl group, a hydroxyl group, and a carbonyl group. The carbonyl group is linked to a sugar moiety, which is further linked to a complex glycosylated side chain. The side chain consists of a glucose molecule linked to a galactose molecule, which is further linked to a mannose molecule, which is finally linked to a glucose molecule. The mannose molecule is substituted with a methyl group and a hydroxyl group.</p>	Neoplasias cerebrales malignas y en el carcinoma de testículo

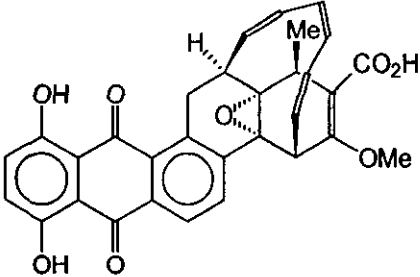
	Fármaco	Estructura Química	Usos
ANTIBIOTICOS ANTINEOPLASICOS	Bleomicina		Linfomas de Hodgkin y no Hodgkin, y en el carcinoma testicular y de cabeza y cuello.
	Mitomicina C		Tratamiento de los procesos malignos gastrointestinales.
FARMACOS DE ORIGEN VEGETAL	Vincristina		Leucemia linfocítica, los linfomas de Hodgkin y no Hodgkin y en el tumor de Wilms.

	Fármaco	Estructura Química	Usos
FARMACOS DE ORIGEN VEGETAL	Vinblastina	 <p>The image shows the chemical structure of Vinblastine, a complex alkaloid. It features a central pentacyclic core with a decalin-like system fused to a piperidine ring. Various substituents are attached, including a methyl ester group (CH₃O₂C), a methoxy group (CH₃O), a methyl group (CH₃), an ethyl group (CH₂CH₃), and another methyl ester group (OCCH₃). Stereochemistry is indicated with wedges and dashes.</p>	Carcinoma testicular, el carcinoma de mama, los linfomas de Hodgkin y no Hodgkin y el cáncer pulmonar.
	Etopósido	 <p>The image shows the chemical structure of Etoposide, a glycoside. It consists of a glucose molecule in its cyclic pyranose form, linked via an ether bridge to a substituted benzene ring. The glucose ring has hydroxyl groups at the 2, 3, and 6 positions and a methyl group at the 4 position. The benzene ring has methoxy groups (H₃CO and OCH₃) at the 3 and 5 positions and a hydroxyl group (OH) at the 4 position.</p>	Carcinoma pulmonar, testicular y ovárico, así como en los linfomas refractarios y las leucemias agudas.

	Fármaco	Estructura Química	Usos
FARMACOS DE ORIGEN VEGETAL	Tenipósido	 <p>The structure of Teniposide is a complex natural product. It features a central pyranose ring (a six-membered ring with one oxygen atom) substituted with a thiazolidine ring (a five-membered ring with one sulfur atom) at the C2 position and a long side chain at the C3 position. The side chain includes a lactone ring, a dihydroquinoline ring system, and a 3,5-dimethoxyphenyl group. Stereochemistry is indicated with wedged and dashed bonds.</p>	Ha sido aprobado para su utilización como tratamiento de segunda línea en la leucemia aguda infantil
	Camptotecina	 <p>The structure of Camptothecin is a pentacyclic alkaloid. It consists of a benzene ring fused to a pyridine ring, which is further fused to a five-membered ring containing a nitrogen atom. This nitrogen-containing ring is fused to a six-membered ring with a carbonyl group, which is finally fused to a five-membered lactone ring. A hydroxyl group and an ethyl group are attached to the lactone ring.</p>	Potente agente antitumoral. También se emplea para el tratamiento de las leucemias.

FARMACOS DE ORIGEN VEGETAL	Fármaco	Estructura Química	Usos
	Neorazizostatin	 <p>The structure of Neorazizostatin is a complex natural product. It features a central bicyclic core consisting of a five-membered ring fused to a seven-membered ring. Attached to this core are a 3,4-dimethoxyphenyl group, a methyl group, and a sugar moiety. The sugar moiety is a pyranose ring with a methyl group at the C2 position and hydroxyl groups at the C3 and C6 positions. The C4 position of the sugar is linked to the bicyclic core via an oxygen atom. Additionally, there is a methylamino group (NHMe) attached to the sugar ring.</p>	Es un potente agente antitumoral y bactericida.
Calicheamicin γ	 <p>The structure of Calicheamicin γ is a highly complex natural product. It features a central bicyclic core consisting of a five-membered ring fused to a seven-membered ring. Attached to this core are a trimethylsilyloxy group (SSSMe), a hydroxyl group, and a sugar moiety. The sugar moiety is a pyranose ring with a methyl group at the C2 position and hydroxyl groups at the C3 and C6 positions. The C4 position of the sugar is linked to the bicyclic core via an oxygen atom. Additionally, there is a methylamino group (NHMe) attached to the sugar ring.</p>	Este compuesto es muy potente contra bacterias gram positivas y muy activa contra gram negativas. Tiene una potencia extraordinaria contra tumores murinos como P388 y L1210, leucemias y neoplasmas sólidos como son el de colon y melanoma B16.	

	Fármaco	Estructura Química	Usos
FARMACOS DE ORIGEN VEGETAL	Esperamicin A		<p>con actividad antitumoral y antibacteriana de amplio espectro. Se ha encontrado para las esperamicinas una gran actividad contra tumores murinos.</p>
	Taxol		<p>Carcinoma ovárico, de mama y de cabeza y cuello.</p>

	Fármaco	Estructura Química	Usos
FARMACOS DE ORIGEN VEGETAL	Dynemycin A		Tienen una gran potencia contra una amplia variedad de líneas celulares cancerosas y prolonga significativamente el tiempo de vida de ratones inoculados con células P388, leucemia y melanoma B16.
	Asparaginasa	Proteína de peso molecular: 140 000, formada por 4 subunidades. Estructura no establecida.	Leucemia linfocítica aguda.

Los medicamentos usados en quimioterapia se dividen en varios grupos, dependiendo de su modo de acción:

a) Antimetabolitos

Con el nombre de antimetabolitos o antagonistas metabólicos se designan las drogas que actúan interfiriendo con la función de un metabolito esencial por un mecanismo de competencia, debido a que son análogos químicos. En esta forma se impide la biosíntesis de los ácidos nucleicos que son esenciales para la vitalidad de todas las células de multiplicación rápida.

Los antimetabolitos empleados corresponden a tres grupos:

Antagonistas o análogos del ácido fólico o antifólicos. Bloquean la función del ácido fólico, vitamina necesaria para la síntesis de las bases pirimídicas, purinas y sus metabolitos que forman los ácidos nucleicos, interfiriendo por consiguiente en el crecimiento de las células neoplásicas. De éste tipo de compuestos se utiliza el metotrexato. Este compuesto actúa inhibiendo la enzima dihidrofolato reductasa. La actividad de esta enzima es necesaria para mantener los niveles intracelulares de tetrahidrofolatos reducidos, necesarios para la síntesis de nucleótidos de purina y timidilato. Después de su captación celular medida por un transportador, el metotrexato se convierte en un derivado del poliglutamato. Debido al incremento de su retención celular y a la mayor inhibición de otras enzimas dependientes del folato, el compuesto del poliglutamato parece poseer mas actividad antitumoral que el fármaco de origen (Miller, 1989).

Antagonistas o análogos de las purinas. Las bases púricas son componentes e intervienen en la síntesis metabólica de los ácidos nucleicos. Existen sustancias que por su estructura química análoga a las purinas actúan por competencia con las mismas. Comprenden dos subgrupos:

i) Análogos de la hipoxantina. El principal de ellos es la mercaptopurina, que tiene gran semejanza a la base púrica hipoxantina. Este agente precisa ser modificado por la enzima hipoxantinoguanina fosforribosil transferasa (HGPRT) antes de poder inhibir la biosíntesis de la purina.

ii) Análogos de la guanina. El utilizado es la tioguanina, muy semejante a la base púrica guanina. Este agente, al igual que la mercaptopurina, precisa ser modificado por la enzima hipoxantinoguanina fosforribosil transferasa (HGPRT) antes de poder inhibir la biosíntesis de la purina (Stockade, 1987).

Antagonistas o análogos de las pirimidinas. De la misma forma que las bases púricas, las pirimidicas también intervienen en la síntesis metabólica de los ácidos nucleicos. Las sustancias que son químicamente similares a las pirimidinas pueden actuar como análogos de éstas. Comprenden dos subgrupos:

i) Análogos del uracilo: La piridina fluorada 5-fluorouracilo (5FU) fué resultado de un diseño farmacológico racional. El mecanismo de acción no ha sido totalmente definido. Se sabe que tiene efecto sobre la síntesis de ARN.

La fluorodesoxiuridina monofosfato (FdUMP) es un potente inhibidor de la timidilato sintetasa, una enzima necesaria para la síntesis de dTTP y finalmente de ADN. La FdUTP se incorpora al ADN y conduce finalmente a la rotura de las hebras de ADN.

Otro análogo del uracilo, la fluorouridina trifosfato, FUTP se incorpora en el ARN e interfiere con su procesamiento y función.

La floxuridina (FUDR) es un análogo del fluorouracilo. Es un inhibidor de la timidilato sintetasa con menor efecto sobre la síntesis de ARN que el fluorouracilo.

ii) Análogos de la citidina: En este caso , las drogas en vez de ser análogos químicos de las bases pirimídicas directamente, lo son con los nucleósidos, siendo la principal la citarabina. La citarabina es el epímero 2' de la citidina. La citarabina se acumula en las células mediante un proceso mediado por un transportador utilizando el sistema de transporte de la desoxicitidina. Es fosforilada por una serie de tres reacciones enzimáticas hasta su metabolito activo, el ara-CTP. Este se incorpora en el ADN e inhibe su replicación al actuar como un final de cadena (Chabner, et al. 1958).

b) Alquilantes

Los agentes alquilantes están entre los antitumorales mas empleados. Este grupo de fármacos produce muerte celular por formación de uniones covalentes con los ácidos nucleicos y se incorporan al ADN produciendo ruptura de la secuencia de las cadenas y de sus puentes de unión, por lo que tiene acción citotóxica importante. Este grupo de medicamentos se une con mayor frecuencia a las bases guanina, adenina, y citosina del ADN. Pueden actuar en todas las fases del ciclo celular, pero cuantitativamente tienen acción más importante en los tejidos con proliferación rápida. Lo mas adecuado es considerar a estos agentes como activos durante el ciclo y no específicos de fase. La alquilación del ADN es mutágena y carcinógena, dando lugar a graves complicaciones a largo plazo entre las que se encuentran efectos nocivos sobre la espermatogénesis y la oogénesis, así como una predisposición al desarrollo de leucemias secundarias.

A pesar de que los diferentes agentes alquilantes comparten sus mecanismos de acción, su farmacocinética y eficacia es diferente en las diferentes neoplasias malignas, es interesante el hecho de que estos agentes no tienen resistencia cruzada (Harrison, 1995)

Mostazas nitrogenadas. Fué el primer fármaco empleado con éxito como antineoplásico al principio del decenio de 1940, e inició la quimioterapia antitumoral (Uribe, 1995). También se tienen análogos de la mostaza nitrogenada, que se clasifican según su estructura química:

mostazas nitrogenadas alifáticas: mecloretamina o clormetina; mostazas nitrogenadas heterocíclicas: ciclofosfamida; mostazas nitrogenadas aromáticas: clorambucil, melfalán (Adair, 1931).

La ciclofosfamida es activa solamente después de metabolizarse en los microsomas hepáticos a 4-hidroxíciclofosfamida. Se metaboliza posteriormente en los tejidos periféricos en mostaza de fosforamida y en acroleína. La ifosfamida es un análogo muy emparentado de la ciclofosfamida. La ifosfamida precisa también del metabolismo hepático para su activación.

Etileniminas. Constituyen otro grupo de agentes alquilantes sintéticos polifuncionales, siendo el principal el tiotepa o TTP y la trietilenimina cíclica, hoy abandonada por su escaso margen de seguridad.

Alquilsulfonatos. Constituyen el tercer grupo de drogas alquilantes, siendo su exponente principal el busulfán o BSF, de propiedades semejantes a los anteriores.

Nitrosureas. Se trata del cuarto grupo de agentes alquilantes. Son varios fármacos de los cuales se emplean cuatro en la actualidad: carmustina o BCNU, lomustina CCNU, metil lomustina o Metil-CCNU y estreptozotocina.

Triazenos. Corresponden al quinto grupo de drogas alquilantes y su exponente principal es la dacarbazina DTIC o DIC (Litter, 1988).

c) Metales pesados

De los metales pesados, el único con acción antineoplásica es el platino, que posee un mecanismo de acción principal semejante a los agentes alquilantes: actúa sobre el ADN y su acción principal es la producción de una unión cruzada entre las dos cadenas de doble hélice del

ADN, lo que impide la replicación del mismo. La unión del cisplatino con el ADN se realiza especialmente en los residuos de guanina, aunque también puede realizarse con base en la adenina (Stockade, 1987). El carboplatino es un análogo del cisplatino, con eficacia semejante (Roberts, J. y Pascoe, J., 1972).

d) Metilhidrazinas

Las metilhidrazinas constituyen un grupo de drogas antineoplásicas con un mecanismo de acción distinto a las demás. Se ha postulado que actúa sobre el DNA. Este es fragmentado o despolimerizado por las metilhidrazinas pero sólo en presencia de oxígeno. Dicha droga sufre una oxidación en el organismo con formación de peróxido de hidrógeno capaz de oxidar al ADN.

Además de este mecanismo de acción, se ha postulado uno en que interviene la metilación de la base guanina del ARN. Esta metilación trastorna la función del mismo, con las consiguientes perturbaciones de la síntesis protéica y la vida celular.

De las metilhidrazinas la que se emplea es la procarbazina. La procarbazina es un inhibidor de la monoaminooxidasa, fué desarrollada originalmente como antidepresivo y mas tarde se descubrió que poseía actividad antitumoral. Precisa ser oxidado por enzimas hepáticas, después de lo cual funciona como un agente alquilante (Brusick, 1987).

e) Antibióticos antineoplásicos

Existe una serie de antibióticos con propiedades citotóxicas o antineoplásicas:

Antraciclinas. Con este nombre se designan los antibióticos que poseén el núcleo químico del antraceno, agregado de un cuarto anillo, que da lugar al núcleo de naftaceno. Los agentes más empleados en oncología clínica son la daunorrubicina, daunomicina, adriamicina y epirubicina.

Los 4 tienen mecanismos de acción similares inhibiendo en última instancia, la síntesis de ADN, ARN y proteínas nucleares; sin embargo, se desconoce lo más importante de su acción antiproliferativa. Parecen actuar en todas las fases del ciclo celular pero más importante en la fase S.

Cromomicinas. Denominadas así por ser coloreadas, de ellas se emplea la mitramicina o MTM, que se extrae del microorganismo *Streptomyces argilleceus* y del *Streptomyces tanshiensis*. Se trata de un glucósido denominado también ácido aureólico cuyo cromóforo es la cromomicinona.

Glucopéptidos. También son glucósidos y de ellos se destaca la bleomicina. Este medicamento tiene una mezcla de péptidos antibióticos con máxima acción citotóxica durante el período premitótico o fase G2 del ciclo celular y parte del período mitótico (Bianchi, N.O. y Lopex-Lazarra, 1991).

Cromopéptidos. Son péptidos coloreados que corresponden al subgrupo de las actinomitinas. De ellas se emplea la actinomicina D, que debido a su estructura química plana se intercala al ADN e inhibe la síntesis de ARN. También parece interactuar con la enzima Topoisomerasa II (Wakaki S., et al, 1958).

Mitosanos. Son antibióticos coloreados y el utilizado en la medicina es la mitomicina C. Este compuesto se activa en el interior de la célula y el efecto antiproliferativo se logra por formación de enlaces cruzados en el ADN (Arora, S. 1979).

f) Fármacos de origen vegetal

Alcaloides de la Vinca. Los más importantes son la vincristina y vinblastina; existe un análogo de esta última, la vindesina, de escaso uso clínico. El efecto principal de estos fármacos ocurre por despolimerización de la tubulina, la cual es una proteína de citoesqueleto. Inhibe el

ensamblaje de los microtúbulos, bloqueando la división celular en la mitosis (Noble, R., et al. 1958).

Epipodofilotoxinas. Las epipodofilotoxinas VP-16 (etopósido) y el VM-26 (tenipósido) son derivados semisintéticos del producto natural podofilotoxina, derivado de la planta *Mandrágora americana*. Las epipodofilotoxinas actúan también uniéndose a la tubulina, pero se cree que resultan citotóxicos por su interacción con la enzima topoisomerasa II, lo que conduce a la fragmentación del ADN y, en último lugar, a la muerte celular. El etopósido es más eficaz y frecuentemente se utiliza en medicina clínica.

Taxanos. El pacitaxel (Taxol), es un miembro de la familia de los taxanos. Deriva del tejo del pacífico *Taxus brevifolia* (taxaceae). El taxol actúa estimulando la polimerización de la tubulina, dando así la formación de los microtúbulos y no permitiendo su posterior depolimerización evitando así la división celular.

Camptotecina. La camptotecina es un alcaloide derivado del triptófano. Se obtuvo por primera vez de la planta *Camptotheca acuminata* (Nysaceae). Es un potente agente antitumoral, se utiliza en el tratamiento de cáncer de colon. Actúa inhibiendo la actividad de la topoisomerasa I y II, dando como resultado la muerte celular.

Colchicina. Se obtuvo de la especie vegetal *Colchicum autumnale* (liliaceae). Es un agente empleado para el tratamiento de la gota y con menor uso como agente antitumoral. Tiene acción antimitótica por inhibición de la polimerización de la tubulina (Wilson, L. et al. 1976).

Endiinos. Se han descubierto recientemente una nueva clase de antibióticos para el tratamiento de cáncer, conocidos actualmente como endiinos. Se han encontrado 4 clases principales de endiinos, los cuales se describen a continuación:

- Neocarzinostatina (NCS).- Es un antibiótico complejo que consiste en una mezcla 1:1 de componente protéico (apoproteína NCS) y una molécula cromófora (Cromóforo NCS), aislado de *Streptomyces carzinostaticus* var F-41. Se ha encontrado que el NCS es un potente agente antitumoral y bactericida, esto debido a que actúa dañando directamente al ADN. El daño al ADN está dado principalmente por rompimientos de una sola cadena por medio de una reacción oxígeno-dependiente, además de que el NCS es un agente que se intercala al ADN.
- Calicheamicinas.- Estos compuestos se aislaron de *Micromonospora echinospora* ssp. *calichensis*. El agente con mayor importancia desde el punto de vista clínico es la calicheamicin (11). Este compuesto es muy potente contra bacterias gram positivas y muy activa contra gram negativas. Tiene una potencia extraordinaria contra tumores murinos como P388 y L1210, leucemias y neoplasmas sólidos como son el de colon y melanoma B16. Estos agentes actúan dañando directamente al ADN por medio de cortes de cadena doble en secuencias específicas, como son los sitios TCCT.
- Esperamicinas.- Son una subclase de endiínos con actividad antitumoral y antibacteriana de amplio espectro. Se aislaron de *Actinomadura verrucospora*. Existen semejanzas entre las esperamicinas y las calicheamicinas, principalmente en estructura, actividad biológica y mecanismo de acción. Las esperamicinas y las calicheamicinas son los agentes anticancerígenos más potentes que se conocen dentro de los endiínos. Se ha encontrado para las esperamicinas una gran actividad contra tumores murinos. El mecanismo de acción es igual a las calicheamicinas.
- Dinemicinas.- Estos son antibióticos anticancerígenos obtenidos de *Micromonospora chersina*. Tienen una gran potencia contra una amplia variedad de líneas celulares cancerosas y prolonga significativamente el tiempo de vida de ratones inoculados con células P388, leucemia y melanoma B16. Las dinemicinas y sus derivados presentan actividad antibacteriana prometedora con poca toxicidad. Estos compuestos provocan rompimientos

tanto de una como de las dos cadenas de DNA, esto provocado por intercalación al DNA (Nicolau K. C., Sorensen E.J. 1991)

G) Otros fármacos

Mitoxantrona. Su mecanismo de acción no se conoce totalmente. Altera el funcionamiento del DNA y no parece ser específico de alguna fase del ciclo celular.

Asparaginasa. Es una sustancia completamente diferente a las demás drogas antineoplásicas, la asparaginasa, pues se trata de una enzima. Esta enzima al hidrolizar el aminoácido asparagina, que las células neoplásicas sensibles no pueden sintetizar se las priva de un aminoácido esencial, y dichas células no pueden sintetizar sus proteínas, con lo que bloquea la proliferación tumoral (Uribe, 1995).

Si bien hay una buena cantidad de agentes quimioterapéuticos, la necesidad de importación de los mismos hace que el costo por paciente sea muy elevado. Esto ocasiona que en países como México, la búsqueda de nuevos agentes antineoplásicos sea de alta prioridad (Harrison, 1995).

III. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

El cáncer a nivel mundial, está reconocido como un problema importante de salud pública, debido a las frecuencias tan elevadas que ha alcanzado, a su impacto económico y trascendencia social. Desde principios de siglo los investigadores han tratado de encontrar sustancias químicas que puedan detener o matar a las células tumorales (Zudrod et al, 1977). Por una investigación sistemática y organizada o por serendipia, se han ido encontrando o desarrollando agentes químicos, tanto naturales o sintéticos, que se utilizan en el tratamiento de ciertos cánceres.

Cada año la industria farmacéutica produce más y más sustancias, a pesar de esto, son muy pocas las que tienen utilidad en el tratamiento del cáncer, por lo cual subsiste la necesidad de encontrar agentes con un amplio espectro de actividad antitumoral y con menor toxicidad que los agentes usados actualmente.

En general la búsqueda sistemática de nuevos antineoplásicos consiste en realizar un cernimiento en el cual de un grupo de sustancias se escogen aquéllas que puedan tener el mayor potencial como agentes anticancerígenos al ser aplicados en la clínica. Este cernimiento se lleva a cabo tanto para moléculas naturales como para sintéticas, cuando en estos estudios no hay actividad, entonces la investigación de la sustancia se suspende y sirve de retroalimentación para modificar la estructura. Si hay confirmación de la actividad, entonces se puede continuar con pruebas mas específicas (Goodwin T. W y Mercer E.J. 1972).

En lo que va del siglo, y merced de los extraordinarios progresos de la síntesis química durante la segunda mitad del siglo XIX, la Química Farmacéutica y la terapéutica en general se han desarrollado bajo la presión de la síntesis orgánica. Ello ha sido de indudable beneficio para el crecimiento en todos los sentidos del arsenal terapéutico, pero ha ocasionado una falta de interés científico por los recursos naturales como fuentes de remedios curativos (Younkeen, 1951).

El conocimiento y utilización de las plantas por las sociedades humanas tiene una larga e interesante historia, reconociéndose que desde siempre los vegetales satisfacen muy diversas necesidades y una de ellas es la recuperación y el mantenimiento de la salud.

En México, esta historia es milenaria y se remonta a los tiempos en que dominaban los grupos humanos, que organizados en bandas nómadas o seminómadas recorrían el territorio buscando cobijo temporal en cuevas y sustento en la práctica de la caza, la pesca y la recolección de plantas silvestres. Estos grupos, grandes conocedores de las posibilidades alimenticias y propiedades curativas de la flora silvestre, heredaron toda su sabiduría a los pueblos agrícolas, origen de las diversas culturas del México antiguo.

En la actualidad existen algunas áreas de investigación interesadas en las plantas medicinales. Uno de éstas es la etnobotánica, ciencia que aborda las relaciones históricas entre las sociedades humanas y el entorno vegetal bajo un enfoque de investigación multidisciplinaria, y que en México ha desarrollado estudios referidos a plantas medicinales, comestibles, de ornato, para la construcción, místico-religiosas; los sistemas agrosilvícolas y huertos; domesticación y agricultura tradicional, de carácter histórico (Rzedowski, 1977).

Los recursos vegetales, entre los de uso medicinal, constituyen uno de los elementos claves, cuya presencia se da, invariablemente a lo largo de todo el año. En cuanto a la diversidad, México con sus 26,000 especies, aproximadamente, es uno de los países de mayor riqueza en el mundo, en su inventario están representadas prácticamente todos los tipos de vegetación conocidos y su aporte a la herbolaria se calcula -muy conservadoramente- en más de 5,000 especies vegetales con uso medicinal.

A la abundancia mencionada se agrega la incorporación permanente de nuevas plantas medicinales nativas o introducidas, tanto silvestres como cultivadas; de modo que al incrementarse el acervo de la herbolaria mexicana se observa un fortalecimiento de la medicina

tradicional que además de contener en su esquema cognoscitivo a la herbolaria, sigue incluyendo a los animales y los minerales medicinales, así como las prácticas terapéuticas (Wagner, 1977).

Sobre el tema de la herbolaria es satisfactorio señalar que en México existen instituciones con una larga tradición que coadyuvan con sus investigaciones a conocer cada vez mejor este universo del conocimiento, como por ejemplo el Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social, el Botánico de Plantas Medicinales "Maximino Martínez", el Programa de Flora Medicinal México del Instituto Nacional Indigenista; el Museo y jardín Etnobotánico de Medicina Tradicional Herbolaria del Estado de Morelos; y el jardín Botánico Universitario de la Universidad Autónoma de Tlaxcala. (Rodríguez J. et al 1995)

Entre las familias mas importantes de la flora mexicana destaca la familia de las labiadas (labiate=lamiaceae), la cual es cosmopolita con un total de 3500 especies (Briquet, 1879) agrupadas en 180 géneros, de los cuales sólo algunos han sido estudiados sistemáticamente, tal es el caso de : Sideritis (Escamilla, 1980), Teucrium (Piozzi, 1981), Ajuga (Camps, 1981) y Rhabdosia (Kubo, 1978), por lo tanto se puede afirmar que el estudio químico de ésta familia es incompleto.

Desde el punto de vista químico esta familia es una fuente muy rica de una gran variedad de metabolitos secundarios, tales como monoterpenos, diterpenos, triterpenos, flavonas y con menor frecuencia sesquiterpenos y sesterpenos (Esquivel, 1986).

Biológicamente esta familia es interesante debido a las diversas propiedades que presentan algunos compuestos aislados de ciertas especies, propiedades como: antitumorales, antimicrobianas (Zudrod, 1977), espasmolíticas (Wagner, 1977), sedativas, bactericidas, antivirales y repelentes a insectos.

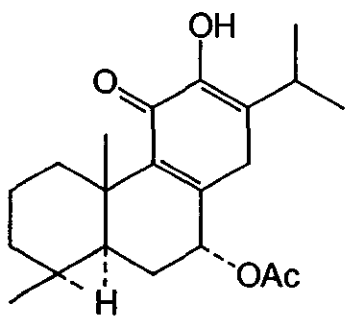
En México esta familia de Labiadas está representada por aproximadamente 550 especies comprendidas en 42 géneros (Rzedowski, 1977), su importancia se debe a su amplia utilización

en la medicina tradicional de nuestro pueblo (Martínez, 1944), así como condimento. De estos géneros el más abundante es el *Salvia*, representado por aproximadamente 275 especies, fué establecido por Linneo en 1753 y actualmente cuenta con aproximadamente 900 especies, distribuidas por todo el mundo (Standley, 1973) estando el total de estas especies agrupadas en cuatro subgéneros: *Leonía*, *Salvia*, *Sclarea* y *Calosphace*, siendo este último el más abundante con aproximadamente 550 especies, comprendidas en 91 secciones y es en su totalidad del Continente Americano (Epling, 1939).

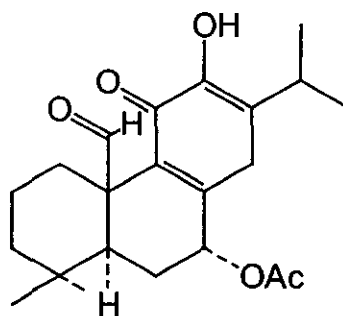
La *Salvia pubescens* Benth es un arbusto perenne de 3m de alto. De acuerdo con Epling esta especie está clasificada en la sección de *Erytostachys* que pertenece al subgénero *Calosphace* del género *Salvia*. Esta especie se localiza al suroeste de la República Mexicana por lo que se considera endémica a los estados de Oaxaca, Guerrero y Puebla.

De esta planta se lograron aislar varios compuestos diterpénicos, los cuales presentan esqueleto de Abietano (Galicia, 1987). De estos compuestos se comenzó un precernimiento para estudiar su posible utilidad como agentes antineoplásicos en la Escuela de Farmacia de la Universidad de Purdue, en Estados Unidos. Este precernimiento consistió en evaluar la toxicidad de las sustancias basándose en algunas de las pruebas que se llevan a cabo en el Instituto Nacional de Cáncer en Estados Unidos, como son el bioensayo con *Artemia salina* y tres líneas celulares humanas: A-549 (colon), MCA-2 (pecho) y HT-29 (pulmón); encontrándose que la 7 α -acetoxiroyleanona y la Nemorona podrían funcionar como agentes antineoplásicos.

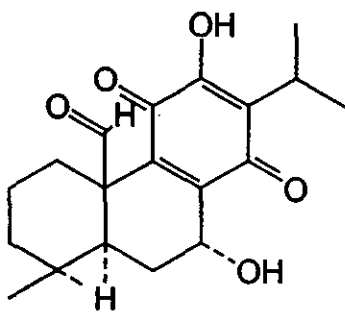
Figura 1.



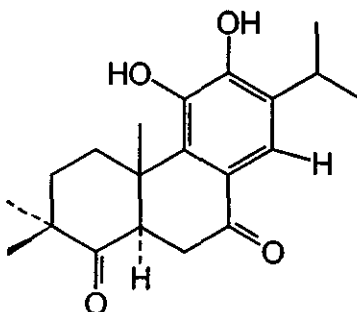
7 α -acetoxiroyleanona
Sólido cristalino amarillo



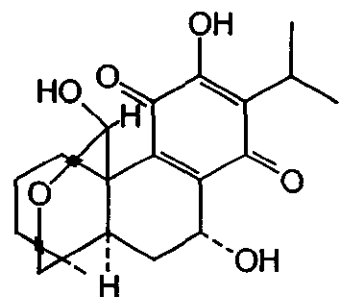
Nemorona
Sólido cristalino amarillo



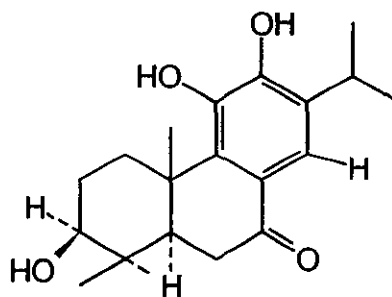
Desacetilnemorona
Sólido cristalino amarillo



Sólido cristalino blanco



Conacytona
Sólido cristalino amarillo



Sólido cristalino amarillo

En 1975 se introdujo en el Instituto Nacional de Cáncer un sistema para valorar la toxicidad de diferentes compuestos, utilizando diversos tipos de pruebas como el bioensayo con *Artemia Salina* y la utilización de un modelo leucémico llamado P-388 aislado por Potter y Briggs en 1962 de ratones DBA/2 que fueron expuestos a metilcolantreno (Lowe y Davis, 1989).

El ensayo consistía en implantar células P-388 intraperitonealmente en ratones de la cepa CDF1 o BDF1, utilizando un solo sexo en cada ensayo, los cuales después de un día eran tratados con los esquemas seleccionados, que podían consistir en dosis únicas o bien en dosis repetidas del compuesto de elección. El parámetro evaluado al término de la prueba era tiempo de sobrevida (Shabel et al 1977).

La finalidad de un sistema de cernimiento inicial es seleccionar aquellas sustancias con posible acción anticancerígena, para así continuar con el cernimiento secundario y culminar con las pruebas a nivel clínico.

En la etapa primaria del cernimiento, se requiere que los modelos utilizados tengan una gran sensibilidad, es decir, que detecten un número grande de drogas que sean potencialmente activas (Venditti, 1981).

En la etapa secundaria del cernimiento se requiere que los modelos usados sean capaces de detectar el mayor número de sustancias con actividad específica, es decir, deben descartar el mayor número de falsos positivo.

Cabe mencionar que existen casos en los cuales, si las sustancias presentan estructuras químicas relevantes, se puede llegar a hacer un lado el cernimiento y pasar directamente a las pruebas farmacológicas y clínicas.

Hoy en día el Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos, estableció el uso de un panel de alrededor de 60 a 100 líneas tumorales de humano en las cuales se probarían *In Vitro*

las sustancias. Una de las ventajas que este esquema o estrategia puede tener sobre las anteriores es la posibilidad de descubrir agentes que sean relativamente específicos para un cierto tipo de tumor (Johnson, 1990).

Sin embargo este esquema de 100 líneas tumorales es muy costoso y difícilmente se puede implementar en países como México. Debido a esto, en 1992 nuestro grupo propuso el uso del cultivo de linfocitos humanos como un sistema útil en el presernimiento de sustancias antineoplásicas (Rojas et al 1992).

La Universidad Nacional Autónoma de México ante la problemática antes planteada, implementó el proyecto para el desarrollo de sustancias antineoplásicas participando en él investigadores de la Facultad de Química, Facultad de Medicina y del Instituto de Investigaciones Biomédicas, los cuales desarrollan y evalúan sustancias tanto naturales como sintéticas con potencial antineoplásico; marco en el cual se desarrolló este trabajo.

IV. OBJETIVOS

Los objetivos de este trabajo fueron:

- Evaluar la capacidad antineoplásica de un componente de la *Salvia pubescens* Benth, la 7 α -acetoxiroyleanona mediante la evaluación de la citotoxicidad y/o citostaticidad en cultivo de linfocitos de sangre periférica humana *In Vitro*.
- Se usarán como parámetros al índice mitótico (citotoxicidad), cinética de proliferación celular (citotoxicidad y citostaticidad).
- Se comparará su comportamiento en el sistema con antineoplásicos de referencia.

V. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para llevar a cabo los cultivos de linfocitos se requirió de cuatro donadores de sangre “sanos”, que no fumasen, no ingirieran bebidas alcohólicas, ni medicamentos. Se realizaron las pruebas por triplicado para cada donador.

Se tuvo cuidado de contar con el compuesto químico “puro”. Se hicieron pruebas de solubilidad de éste y se utilizaron tres tipos de controles:

- Un control negativo
- Un control de disolvente (dimetil sulfóxido, DMSO)
- Un control positivo de un antineoplásico conocido (mitomicina C).

Se utilizaron diferentes concentraciones del compuesto químico en los cultivos. Tanto los controles, como las diferentes concentraciones que se emplearon se hicieron por duplicado.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

- **Obtención y preparación de muestras sanguíneas**

Se obtiene sangre de donadores sanos, con jeringas desechables previamente heparinizadas bajo condiciones de esterilidad. La sangre se cultiva siguiendo la técnica descrita por (Ostrosky et al 1991) que consiste en lo siguiente:

- **Siembra**

A 0.5 mL de sangre, se le agrega 6 mL de medio RPMI 1640 modificado y suplementado con 1mL de aminoácidos no esenciales y 1 mL de glutamina 200 mM por cada 100 mL de medio a 37 °C. Después se añade 0.2 mL de fitohemaglutinina (PHA) y 0.3 mL de Bromodesoxiuridina, (concentración final 32 μ M). Incubar a 37 °C, durante 48 horas.

- **Tratamiento**

A las 48 horas de la siembra, se agrega tratamiento a diferentes concentraciones. Se utilizará control negativo, control positivo y un control del disolvente. Se incubará durante 22 horas mas.

- **Cosecha**

A las 70 horas se agregan 200 μ L de Colcemid de preparación comercial 10 μ g/mL. A las 72 horas se centrifuga a 1200 rpm durante 10 minutos y se quita sobrenadante. Se agrega solución de KCl 0.075 M (\approx 7 mL) a 37 °C.

Incubar durante 30 minutos a 37 °C en movimiento, centrifugar, quitar sobrenadante, agregar solución de metanol-acético glacial 3:1 recién preparada y fría. Volver a centrifugar. Se

repite este proceso unas cuatro veces hasta obtener un botón blanco. Se resuspende en 0.5 mL de metanol-acético glacial 3:1.

- **Preparación de laminillas**

Se resuspende el botón en los 0.5 mL de metanol-acético glacial 3:1, se dejan caer 4 gotas en una laminilla lavada y enfriada en etanol al 96% desde una altura de aproximadamente 1.5 m. Se seca a la flama.

- **Tinción**

Colocar las laminillas en caja Coplin. Agregar 1mL de solución Hoescht al 0.01% en 50 mL de solución buffer de fosfatos a pH de 6.8 (fosfato de sodio al 0.95% y fosfato de potasio al 0.91% en proporción 1:1), durante 30 min a temperatura ambiente en oscuridad.

Lavar las laminillas con agua, secar y colocarlas en una lámpara de luz U.V (calentada 30 minutos previamente), cubiertas con solución buffer de fosfatos a pH de 6.8 y un cubreobjetos para evitar la evaporación , durante aproximadamente dos horas.

Sacar las laminillas, colocarlas en una caja Coplin con agua y 5 mL de Giemsa, durante 4 minutos. Lavar y secar las laminillas. Se analizan al microscopio.

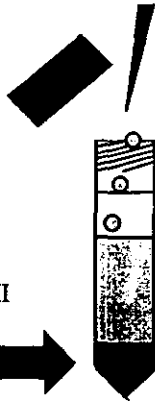
Figura 2.

SIEMBRA



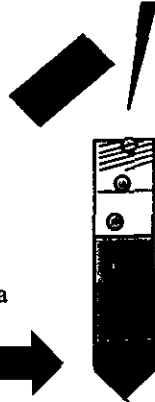
0.5 mL sangre
6 mL medio RPMI
suplementado
0.2 mL PHA
0.3 mL BrdU

TRATAMIENTO



Se trata con la
7α-acetoxiroleanona
a diferentes
concentraciones:
10, 20, 40, 80 y 100 μM

COSECHA



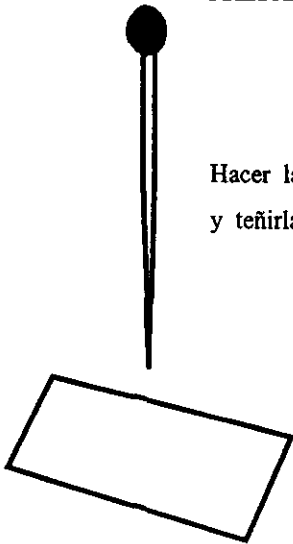
Se agregan
200 μL de
Colcemid

⊕ 48 horas después...

⊕ 22 horas después...

⊕ 2 horas después...

PREPARACION DE LAS LAMINILLAS Y TINCIÓN



Hacer laminillas
y teñirlas



Centrifugar 10 min.
Quitar sobrenadante.
Agregar KCl 0.075 M.
Incubar 30 minutos
Centrifugar 10 minutos
Quitar sobrenadante
Agregar fijador
Repetir hasta obtener
un botón blanco.

VII. TECNICAS DE ANALISIS

- **Indice Mitótico (IM)**

Con el IM es un parámetro que indica el porcentaje de células que están en mitosis. Este índice ha sido ampliamente utilizado como un marcador para evaluar y comparar la tasa de proliferación celular. (Rojas et al, 1992)

El índice mitótico (IM), nos permite distinguir si un compuesto es citotóxico.

Se leen las laminillas al microscopio a 20 aumentos, recorriéndolas en zig-zag y comenzando de la parte central de la laminilla para contar 2000 núcleos totales estimulados (aquéllos que presentaban forma aproximadamente esférica, de tinción clara y de tamaño relativamente grande, siempre y cuando pudieran identificarse individualmente como un núcleo de linfocito que sobrevivió en el cultivo) y de ellos determinar cuántos estaban en división.

Como metafase se cuantificó a las agrupaciones de cromosomas bien definidas como un número de elementos mayor de 30 cromosomas.

El valor de índice mitótico se obtiene con la siguiente fórmula:

$$\text{IM} = \frac{\text{No. de metafases}}{2000 \text{ núcleos estimulados}}$$

Estadística:

Para estudiar las diferencias entre los controles y las concentraciones empleadas de la 7 α -acetoxiroyleanona se realizó la prueba de T de Student.

- **Cinética de Proliferación Celular (CPC)**

El desarrollo de la técnica de tinción diferencial basada en la incorporación de BrdU en el ADN, ha permitido la identificación de células que se han replicado una, dos o más veces, haciendo posible la determinación del crecimiento de poblaciones celulares.

La CPC permiten distinguir si un compuesto es citostático o citotóxico.(Rojas et al, 1992).

En esta técnica se localizan 100 metafases. Con el objetivo de 100 aumentos y aceite de inmersión, se determina cada una, como primera (M1), segunda (M2), tercera división o subsecuentes (M3), dependiendo de la cantidad de tinción clara y oscura que presentaran los cromosomas.

Si la metafase presenta un 100 % de tinción oscura, se clasifica como M1, si en esta se observaba un 50 % de tinción clara y un 50 % de tinción oscura sobre cada cromosoma se clasifica como M2 y por último, si la metafase presenta aproximadamente un 25 % de tinción oscura y un 75 % de tinción clara, la metafase se clasificó como M3.

Las metafases deben tener como mínimo 40 cromosomas.

$$IR = \frac{M1(1)+M2(2)+M3(3)}{100 \text{ metafases}}$$

Estadística:

Para estudiar las diferencias entre los controles y las concentraciones empleadas de la 7 α -acetoxiroleanona se realizó la prueba de T de Student.

VIII. RESULTADOS

La 7 α -acetoxiroleanona no es soluble en agua, debido a ésto tuvimos la necesidad de buscar otro disolvente. Encontramos que esta sustancia es soluble en DMSO al 100% y que la utilización de éste no altera la proliferación de los linfocitos.

Se hicieron varios experimentos tratando de encontrar un rango de concentración en el que la 7 α -acetoxiroleanona tuviera algún efecto sobre los linfocitos. En base a los resultados obtenidos se determinó un rango de concentración de 10 a 100 μ M. (Gráfica 1).

Se hicieron los experimentos con cuatro donadores: dos mujeres (LHH y EHH) y dos hombres (DBL y GBO). Todos ellos tienen entre 22 y 24 años, ninguno de ellos tiene el hábito de fumar, beber; ni tomó medicamentos por lo menos 3 semanas antes de cada toma de muestra.

Los experimentos se hicieron por triplicado por cada donador. Se utilizaron tres tipos de controles:

Control negativo

Control de disolvente: Dimetil Sulfoxido (DMSO)

Tanto los controles como las diferentes concentraciones se hicieron por duplicado. La evaluación del IM y de la CPC fué siempre a doble ciego.

En general los datos obtenidos en el estudio de los efectos *in vitro* de la 7 α -acetoxiroleanona en los linfocitos de los cuatro donadores, muestran una inhibición de la proliferación en función de la concentración, disminuyendo el índice mitótico (IM) y la cinética de proliferación celular (CPC) al aumentar la concentración de la 7 α -acetoxiroleanona.

Se llevó a cabo el análisis estadístico mediante la prueba T de Student. Se compararon los resultados tanto del IM como de CPC para las diferentes concentraciones utilizadas de la 7 α -acetoxiroleanona, así como de los controles.

Encontramos que para el IM esta sustancia produce en todos los donadores una curva dosis-respuesta entre las concentraciones y que ésta inhibición es muy homogénea entre los diferentes experimentos de cada donador (gráfica 2-21). Cuando se aplicó estadística a los datos se encontró en todos los casos una diferencia significativa ($p < 0.005$).

Con respecto a los parámetros de CPC e IR se observó que esta sustancia inhibe la proliferación en todos los donadores, haciendo que, al incrementar la dosis de la 7 α -acetoxiroleanona en los cultivos aparezcan más células que sólo se dividieron una sola vez (M1); mientras que el Índice de Replicación disminuye con respecto a la dosis (gráficas 23-43).

Con respecto a los controles, en todos los casos, tanto para IM como para IR encontramos diferencia estadísticamente significativa, entre los controles positivos y los negativos. En la comparación del control negativo con el control de disolvente no encontramos diferencia estadísticamente significativa.

Para cada donador se hizo una gráfica donde se presentan los promedios de todos los datos obtenidos para IM y el porcentaje de M1, M2 y M3 (gráficas 44-47). Observamos en estas gráficas que en todos los casos existe el mismo patrón de comportamiento: a medida que el IM disminuye al aumentar la concentración de 7 α -acetoxiroleanona, la proporción de M1, M2 y M3 cambia. Aumenta la proporción de M1 a la par que la concentración de la 7 α -acetoxiroleanona.

Para conocer la potencia de la 7 α -acetoxiroleanona con respecto al IM, se calculó la dosis que inhibe el 50% del mismo (IIM50), lo cual se obtuvo a partir de regresiones lineales de los datos experimentales (gráficas 48 y 49).

Se encontró que el IIM50 es de 40.06 μM . Se realizó una comparación de este valor con el de otras sustancias antineoplásicas utilizadas frecuentemente en el tratamiento del cáncer y algunos de nueva síntesis, ya antes estudiados (Rojas, 1992) como es el caso de la bleomicina, mitomicina C, casoipeína 1, melfalán, casoipeína 2, cisplatino, 5-fluorouracilo y 6-mercaptopurina (gráfica 50).

En la gráfica 50 podemos observar que la potencia de la 7α -acetoxiroyleanona es mayor que la del 5-fluorouracilo y que la 6-mercaptopurina; y menor a casoipeína 2, melfalán, casoipeína 1, mitomicina C y bleomicina.

De la misma manera que para el IIM50, se obtuvo la concentración capaz de reducir al 50% el índice de replicación (IIR50), calculadas por medio de una regresión lineal a partir de la transformación de los datos utilizando el parámetro IR (gráficas 51 y 52). Se encontró que el IIR50 es de 62.09 μM . Se comparó a la 7α -acetoxiroyleanona contra los datos de citostaticidad que presentan algunas sustancias ya antes estudiadas (Rojas, 1992) que interactúan directamente con el ADN: bleomicina, mitomicina C, casoipeína 1, melfalán, casoipeína 2 y cisplatino. Encontramos que la 7α -acetoxiroyleanona presenta una potencia ligeramente mayor que el cisplatino y menor a las demás (gráfica 53).

En trabajos anteriores se observó que solamente las sustancias que interaccionen directamente con el ADN son capaces de alterar ambos parámetros (el IM y la CPC). Por este motivo se hizo una relación entre los valores de IR y los de la IIM de la 7α -acetoxiroyleanona y se comparó con las producidas por los antineoplásicos de referencia (gráficas 54 y 55). En la gráfica 54 se compara el comportamiento de la 7α -acetoxiroyleanona con antineoplásicos que no interaccionan directamente con el ADN como son la 6-mercaptopurina y el 5-fluorouracilo, mientras que en la gráfica 55 se compara con sustancias que interaccionan directamente con el ADN, como son: cisplatino, mitomicina C, melfalán y Bleomicina.

Podemos observar que la pendiente para la 7α -acetoxiroyleanona tiene una semejanza mayor a las sustancias que actúan directamente sobre el ADN que con las pendientes de las sustancias que actúan indirectamente con el ADN. Específicamente encontramos una semejanza mayor con el melfalán (gráfica 56-59).

IX. DISCUSION

Los resultados muestran que el índice mitótico y la cinética de proliferación celular presentan cierta variabilidad basal entre los donadores, dicha variabilidad de los resultados existe en los sistemas biológicos (Brusick 1987), y en el cultivo de linfocitos ha sido reportada por varios investigadores (Giulotto *et al.* 1980; Auf der Maur y Berlincourt-Böhni, 1979; Obe y Beek, 1984). Sin embargo, al tratar las células con la 7 α -acetoxiroyleanona se observó que a pesar de existir diferencias basales entre donadores, el comportamiento de los cultivos tratados es muy semejante entre ellos.

Como se puede observar en las tablas 2-17, los linfocitos responden en forma dosis-respuesta: a medida que aumenta la concentración de la 7 α -acetoxiroyleanona se tiene una disminución tanto del índice mitótico, como de la cinética de proliferación celular. También vemos que estos resultados son reproducibles tanto en un sólo individuo a través del tiempo, como entre varios donadores, lo cual indica que el efecto de esta sustancia es homogéneo y que produce efecto citotóxico y citostático en los linfocitos de sangre humana periférica.

Se compararon los datos obtenidos para la 7 α -acetoxiroyleanona con los de algunas sustancias antineoplásicas como cisplatino, 5-fluorouracilo, 6-mercaptopurina, casiopeína 2, melfalán, casiopeína 1, mitomicina C y bleomicina). Se sabe que los fármacos que comparten la característica de interactuar directamente con el ADN, aunque sus mecanismos de acción no sean iguales, además de ser agentes citotóxicos son agentes citostáticos (cisplatino, bleomicina, melfalán y mitomicina C). Esto quiere decir que además de matar a las células, las que no mueren, detienen su división (Rojas et al, 1993).

Por otra parte, los agentes que no actúan directamente sobre el ADN sino que actúan sobre la síntesis de nucleótidos, producen una inhibición del índice mitótico, pero no producen efecto alguno sobre la cinética de proliferación (5-fluorouracilo, 6-mercaptopurina). Además se observó que los fármacos que interaccionan directamente con el ADN presentan en las gráficas de IR vs.

IIM una pendiente negativa, mientras que los agentes que no interaccionan directamente con el ADN presentan una pendiente que tiende a cero.

Con los datos de las sustancias ya antes estudiadas, se había relacionado la inhibición del IM y el IR. Se observó que los fármacos que interaccionan directamente con el ADN presentan en las gráficas de IR vs IIM una pendiente negativa, mientras que los agentes que no interaccionan directamente con el ADN presentan una pendiente que tiende a cero.

Al hacer la comparación de la pendiente de la 7α -acetoxiroleanona con la de 6-mercaptopurina y 5-fluorouracilo, encontramos que no existe relación con la pendiente para la 7α -acetoxiroleanona.

Por otra parte, podemos observar que las pendientes para las sustancias estudiadas con anterioridad que actúan directamente con el ADN tienen mayor similitud con la pendiente de la 7α -acetoxiroleanona.

Se realizó una comparación con cada una de estas sustancias: cisplatino, bleomicina, melfalán y mitomicina C. Específicamente encontramos una mayor semejanza con el melfalán.

En vista de que la 7α -acetoxiroleanona es un agente tanto citotóxico como citostático, al igual que el cisplatino, la bleomicina, el melfalán, la mitomicina C y las casoínas, nos hace pensar que la 7α -acetoxiroleanona posiblemente interactúe directamente con el ADN.

Basándonos en estos resultados podríamos pensar que tal vez el mecanismo de acción bajo el cual se rige la 7α -acetoxiroleanona sea parecido al del melfalán. De esta forma y comparando los demás agentes quimioterapéuticos que se utilizan actualmente, podría tenerse una base para arrancar la búsqueda del mecanismo de acción de este compuesto o de otros que se estén investigando.

X. CONCLUSIONES

En base a los resultados de IM y CPC para la 7a-acetoxiroyleanona, podemos decir que éste es un agente tanto citotóxico como citostático. Se sabe que los fármacos que comparten la característica de interactuar directamente con el ADN, independientemente del mecanismo de acción, se comportan de esta manera. Esto nos lleva a pensar que la 7a-acetoxiroyleanona posiblemente actúe directamente sobre el ADN.

En base a los resultados de IM, podemos ver que la 7a-acetoxiroyleanona presenta una citotoxicidad mayor al 5-fluorouracilo y 6-mercaptopurina; y menor a cisplatino, casiopeína 2, melfalán, casiopeína 1, mitomicina C y bleomicina.

En cuanto a citostaticidad, observamos que la 7a-acetoxiroyleanona presenta una citostaticidad ligeramente mayor que el cis-platino y menor a la casiopeína 2, melfalán, casiopeína 1, mitomicina C y bleomicina.

En base a la semejanza de las pendientes de la 7a-acetoxiroyleanona con el melfalán en las gráficas de IR vs IIM, podríamos pensar que tal vez sus mecanismos de acción sean parecidos. Esta podría ser una base para arrancar la búsqueda del mecanismo de acción de este compuesto.

XI. BIBLIOGRAFIA

- Adams, J.: "Growth control circuitry and the oncogene connection". Cancer Cell 2:190, (1990).
- Adair, F. y Bagg, H.: "Experimental and clinical studies on the treatment of cancer by dichloroethylsulfide (mustard gas)" Annual Surgery 93:190 (1931).
- Arora, S.: "Structural investigations of mode of action of drugs, molecular structure of mitomycin C". Life Sciences, 24:1519-1526 (1979).
- Auf der Maur, P. y Berlincourt-Böhni, K. "Human lymphocyte cell cycle: studies with the use of BrUdR" Human Genetics . 49:209-215 (1979).
- Benitez-Bribiezca L.: "Biología de la célula neoplásica. Su importancia para la oncología clínica". IMSS, Revisión Médica 25:457-467 (1987).
- Bishop, J.: "The cellular oncogenes and the retroviruses". Annual Revision of Biochemistry 52:301 (1983).
- Briquet J.: "Labiatae en Engler-Prantl, Die Naturl Pflanzenfamilien IV" Engelmann Leipzig 2:322-326 (1879).
- Brusick, D. "Principles of genetic toxicology" Plenum Press, Nueva York: 284 (1987).
- Burck, K., Liu, E., Larrick, J.: "Oncogenes and introduction to the concepts of cancer genes" Springer-Verlag, 2:682-689 (1988).
- Cairns, J.: "The origin of human cancers" Nature 289:353-357 (1981).

Cameron, "Oncología práctica", Manuales Clínicos, Médica Panamericana, Argentina:1-36. (1995).

Camps, F., Cortel, A.: "Allelochemicals on insects isolated from *Ajuga* plants (Labiatae)". Revista Latinoamericana Química, 12: 81 (1981).

Chabner, B., Myers, C., Coleman, C., Johns, D.: "The clinical pharmacology pyrimidines, the degradative pathway" Biochemical Pharmacology" 1:328 (1958).

Dagleish, A., Sikora, K., Evan, G., Watson, J.: "The viruses and cancer" The Cancer Cell 11: 435-438 (1991).

Drucker, B., Mamon, H., Roberts, T.: "Oncogenes, growth factors and signal transduction" Journal Medical 321:1383-1391 (1989).

Dulbecco, R.: "La naturaleza del cáncer" Mundo Científico 3:168 (1984).

Epling, C.A. "Revision of *Salvia* Subgenus *Calosphace*". Repertorio de Especies Vegetales: 110 (1939).

Escamilla E. y Rodríguez B.: "Two new diterpenoid acetates from *Sideritis serrata*", phytochemistry, vol 19:463 (1980).

Esquivel B. "Estudio quimiotaxonomico de la sección Fulgentes del género *Salvia* (Labiatae)". Tesis para obtener el grado de M en C. Q.F.B. Facultad de Química U.N.A.M. 12-21 (1986).

Galicia S. "Determinación estructural de los componentes diterpénicos de la *Salvia pubescens* Benth (labiatae)". Tesis para obtener el título de Q.F.B. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana 1-67 (1987).

García, A., Álvarez, P., Bravo, C., Yaniv, M., Garilio, P.: "A nuclear factor from epithelial cells binds to conserved "TTGGCTT" motifs on the long control region of human papillomavirus type 18 (HPV18)" Molecular and Cellular Biology New Series 124:1-10 (1989).

Garilio, P., Ocadiz, R., Saucedo, R.: "Human papillomavirus DNA sequences and C-myc oncogene alterations in uterine cervix carcinoma" Cancer cells 5:313-348 (1987).

Guiulotto, E., Mottura, A., Giorgi, R., De Charli, L., y Nuzzo, F. "Frecuencies of sister-cromatid exchanges in relation to cell kinetics in limpocyte cultures". Mutation Research 70: 343-350 (1980).

Johnson, R.K. "Screening Methods in Antineoplastic drug discovery". Journal National Cancer Institute 82: 1082-1083 (1990).

Killion, J., Fidler, I.: The biology of tumor metastasis". Seminary of Oncology 16:106-115 (1989).

Kubo I.: "The biological Activities of the Isodon Diterpenoids". Revista Latinoamericana de Química, 9:157. (1978).

Litter, M., "Farmacología Experimental y Clínica", El Ateneo, Argentina. 7: 1737-1793 (1988)

Lowe, M.C. y Davis R.D. "The current toxicology protocol of the National Cancer Institute". Fundamentals of Cancer Chemoterapy. 24:228-235 (1987).

Mamurris, Z., Prieur, M., Dutrillaux, B., Aurias, A.: "Chromosomal aberrations in limphocytes of patients treated with melphalan" International Journal Cancer 42:133-139 (1988).

Martínez, M.: "Las plantas medicinales en México". Batas, México 3a. Edición. 195-211 (1944).

Noble, R., Beer, C., Cutts, J., "The further biological activities of vinval leukoblastine - an alkaloid isolated from *Vinca rosea*" Biochemical Pharmacology 1: 347 (1958)

Obe, G., Beek, B. "Human peripheral lymphocytes in mutation research". Mutation Research. 177-197(1981).

Ocadiz, R., Saucedo, R., Cruz, M., Graef, M., Garlío, P.: "High correlation between molecular alterations of the C-myc oncogene and carcinoma of the uterine cervix carcinoma" Cancer Cells 47: 4173-4177 (1987).

Ostrosky-Wegman, P., Gonsébat, M., Montero, R., Vega, L., Barba, H., Espinosa, J., Palau, A., Cortinas, C., García-Vargas, G., Del Razo, L. y Cebrian, M. "Lymphocyte proliferation kinetics and genotoxic findings in a Pilot study on individuals chronically exposed to arsenic in México" Mutation Research, 21: 2038-2043 (1991).

Piozzi F., "The diterpenoids of *Teucrium* species", Heterocycles, 15:1489-1492. (1981).

Rojas, E. "Evaluación de Sustancias Antineoplásicas en Cultivo de Linfocitos como Sistema de Prueba". Tesis para obtener el grado de doctor en ciencias (biología) Facultad de Ciencias, U.N.A.M. 6- 87 (1992).

Rzedowski, J. "Vegetación en México". Limusa, México 12-56 (1983).

Sager, R.: "Tumor suppressor genes. The puzzle and the promise" Science 246:1406 (1989).

Salmeron, J., Franco, F., Salazar, E., Lazcano, E.: "Panorama epidemiológico de la mortalidad por cáncer en el Instituto Mexicano del Seguro Social, 1991-1995" Salud Pública en México 39: 266-273 (1997).

Sauceda, R., Ocadiz, R., Gutierrez, A.L., Salcedo, M., Ortega, V., Figueroa, H., Garilio, P.: "Novel combination of C-myc, N-myc and N-ras oncogene alteration in brain tumors" Journal National Cancer Institute, 80: 665-671 (1988).

Shabel, F.M., Grisword, D.P., Laster, W.R., Corbett, T.H. y Loyd, H.H. "Quantitative evaluation of anticancer agent activity in experimental animals. Pharmaceutical Theory 1: 411-435 (1977).

Standley P., Williams L.: "Flora de Guatemala". Fieldiana Botanicis. 24: 237 (1973).

Stockdale, F.E.: "Cancer growth and chemotherapy" Scientific American Inc. U.S.A., 1-16 (1987).

Uribe, E., "Tratado de medicina interna", Panamericana, México 2:1667-1699 (1995).

Venditti, J.M. "Preclinical drug development: rationale and methods". Seminars in Oncology 4: 349-361 (1981)

Wagner H. "Pharmaceutical and economic use of the Labiatae and Rutaceae families". Revista Latinoamericana de Química. 8: 16-18 (1977).

Wakaki, S.H., Marumo, K., Tomioka, G., Shimizu, E., Kato, H., Kamada, S., Kudo, S., Fujimoto, I.: "Isolation of New fractions of antitumor mitomycins" Antibiotic Chemotherapy 8:228-240 (1958).

Weinberg R.: "Oncogenes, anti-oncogenes and the molecular basis of multistep carcinogenesis". Cancer Resarch 49:3713-3721 (1989).

Wilson, L., Anderson, K., Chin, D.: "Nonstoichiometric poisoning of microtubule polymerization. A model for the mechanisms of action of the vinca alkaloids, podophyllotoxin and colchicine" Cell Proliferation 4:1051-1064 (1976).

Yagel, S., Khoka, R., Denhardt D., Kerbel, R., Lala P.: "Mechanism of cellular invasiveness: a comparison of annion invasion *in vitro* and metastatic behavior *in vivo*. Journal Cancer Intitute 81: 768, (1989)

Youngken, Heber W., "Tratado de Farmacognosia", Atlante, México. 7-21 (1951).

Zudrod, C., Schepartz, S y Carters, S. "Historical background of the National Cancer Institute's Drug Development thrust". National Cancer Institute. 45: 7-12. (1977).

TABLA 1. EFECTO DE LA 7 α -ACETOXIROYLEANONA SOBRE EL INDICE MITOTICO Y LA CINETICA DE PROLIFERACION CELULAR.
DONADOR: DBL

10-02-97

CONCENTRACION (μ M)	IM	M1	M2	M3	IR
C+	0.0016 +/- 0.0002	100	0	0	1.000
CD	0.0179 +/- 0.0029	15	33	52	2.365
0	0.0190 +/- 0.0005	14	34	52	2.473
10	0.0170 +/- 0.0027	15	35	50	2.350
20	0.0189 +/- 0.0013	28	40	32	2.033
40	0.0051 +/- 0.0011	36	42	22	1.853
80	0.0028 +/- 0.0014	76	20	4	1.285
100	0.0000 +/- 0.0000	-	-	-	-

19-05-97

CONCENTRACION (μ M)	IM	M1	M2	M3	IR
C+	0.0014 +/- 0.0005	100	0	0	1.000
CD	0.0219 +/- 0.0009	15	34	51	2.413
0	0.0230 +/- 0.0015	15	32	53	2.393
10	0.0214 +/- 0.0005	10	35	55	2.450
20	0.0155 +/- 0.0049	16	32	52	2.385
40	0.0880 +/- 0.0017	25	38	37	2.130
80	0.0060 +/- 0.0009	56	30	14	1.570
100	0.0030 +/- 0.0004	-	-	-	-

8-09-97

CONCENTRACION (μ M)	IM	M1	M2	M3	IR
C+	0.0013 +/- 0.0004	56	32	12	1.265
CD	0.0162 +/- 0.0002	15	34	51	2.375
0	0.0178 +/- 0.0004	11	33	56	2.450
10	0.0153 +/- 0.0004	15	35	50	2.355
20	0.0120 +/- 0.0007	32	45	23	1.910
40	0.0105 +/- 0.0007	36	42	32	1.860
80	0.0025 +/- 0.0007	74	25	1	1.255
100	0.0000 +/- 0.0000	-	-	-	-

TABLA 2. EFECTO DE LA 7 α -ACETOXIROYLEANONA SOBRE EL INDICE MITOTICO
 Y LA CINETICA DE PROLIFERACION CELULAR.
 DONADOR: LHH

5-05-97

CONCENTRACION (μ M)	IM	M1	M2	M3	IR
C+	0.0018+/-0.0005	71	29	0	1.360
CD	0.0140+/-0.0009	16	30	54	2.398
0	0.0155+/-0.0007	17	28	55	2.375
10	0.0145+/-0.0005	22	34	54	2.213
20	0.0098+/-0.0006	30	44	26	1.960
40	0.0095+/-0.0004	32	45	23	1.905
80	0.0018+/-0.0003	69	27	4	1.353
100	0.0000+/-0.0000	-	-	-	-

7-07-97

CONCENTRACION (μ M)	IM	M1	M2	M3	IR
C+	0.0013+/-0.0004	73	26	1	1.265
CD	0.0190+/-0.0007	13	25	62	2.49
0	0.0223+/-0.0011	10	25	65	2.535
10	0.0130+/-0.0014	12	24	64	2.475
20	0.0088+/-0.0011	16	26	58	2.415
40	0.0055+/-0.0007	14	29	57	2.440
80	0.0038+/-0.0004	23	47	30	2.070
100	0.0000+/-0.0000	-	-	-	-

9-02-98

CONCENTRACION (μ M)	IM	M1	M2	M3	IR
C+	0.0010+/-0.0007	73	27	0	1.275
CD	0.0208+/-0.0004	15	30	55	2.395
0	0.0198+/-0.0004	16	27	57	2.410
10	0.0165+/-0.0014	18	32	50	2.305
20	0.0113+/-0.0004	25	34	41	2.155
40	0.0050+/-0.0014	48	42	10	1.625
80	0.0040+/-0.0007	54	35	11	1.580
100	0.0000+/-0.0000	-	-	-	-

TABLA 3. EFECTO DE LA 7 α -ACETOXIROYLEANONA SOBRE EL INDICE MITOTICO
 Y LA CINETICA DE PROLIFERACION CELULAR.
 DONADOR: EHH

9-06-97

CONCENTRACION (μ M)	IM	M1	M2	M3	IR
C+	0.0009 \pm 0.0002	100	0	0	1
CD	0.0209 \pm 0.0039	13	29	58	2.465
0	0.0210 \pm 0.0025	10	38	52	2.410
10	0.0185 \pm 0.0035	13	30	57	2.460
20	0.0179 \pm 0.0017	12	28	60	2.483
40	0.0108 \pm 0.0010	17	39	44	2.295
80	0.0085 \pm 0.0023	26	42	32	2.010
100	0.0038 \pm 0.0006	33	49	18	1.860

25-08-97

CONCENTRACION (μ M)	IM	M1	M2	M3	IR
C+	0.0010 \pm 0.0007	59	41	0	1.415
CD	0.0175 \pm 0.0000	13	30	47	2.445
0	0.0190 \pm 0.0007	13	36	51	2.375
10	0.0158 \pm 0.0011	14	33	53	2.370
20	0.0158 \pm 0.0004	13	36	51	2.370
40	0.0103 \pm 0.0011	17	38	45	2.285
80	0.0043 \pm 0.0004	27	43	30	2.025
100	0.0013 \pm 0.0004	59	35	6	1.475

10-11-97

CONCENTRACION (μ M)	IM	M1	M2	M3	IR
C+	0.0008 \pm 0.0004	59	41	0	1.290
CD	0.0180 \pm 0.0007	13	30	57	2.295
0	0.0198 \pm 0.0004	13	35	52	2.390
10	0.0155 \pm 0.0014	13	33	54	2.250
20	0.0085 \pm 0.0007	14	36	54	2.070
40	0.0048 \pm 0.0011	16	38	46	1.870
80	0.0008 \pm 0.0004	27	43	30	1.425
100	0.0000 \pm 0.0000	59	36	5	1.000

TABLA 4. EFECTO DE LA 7 α -ACETOXIROYLEANONA SOBRE EL INDICE MITOTICO Y LA CINETICA DE PROLIFERACION CELULAR.
DONADOR: GBO

2-02-98

CONCENTRACION (μ M)	IM	M1	M2	M3	IR
C+	0.0008+/-0.0004	71	29	0	1.290
CD	0.0175+/-0.0014	16	28	56	2.400
0	0.0180+/-0.0007	14	28	58	2.450
10	0.0123+/-0.0011	45	26	29	1.835
20	0.0075+/-0.0007	51	33	16	1.650
40	0.0028+/-0.0004	84	16	0	1.160
80	0.0000+/-0.0000	-	-	-	-
100	0.0000+/-0.0000	-	-	-	-

9-02-98

CONCENTRACION (μ M)	IM	M1	M2	M3	IR
C+	0.0008+/-0.0004	90	10	0	1.100
CD	0.0180+/-0.0007	18	29	53	2.360
0	0.0188+/-0.0004	15	30	55	2.390
10	0.0095+/-0.0014	54	25	21	1.665
20	0.0103+/-0.0004	50	33	17	1.660
40	0.0070+/-0.0007	73	20	7	1.345
80	0.0048+/-0.0011	94	6	0	1.065
100	0.0000+/-0.0000	-	-	-	-

16-02-98

CONCENTRACION (μ M)	IM	M1	M2	M3	IR
C+	0.0018+/-0.0004	75	25	0	1.17
CD	0.0170+/-0.0000	16	30	54	2.385
0	0.0178+/-0.0004	14	30	56	2.4
10	0.0155+/-0.0007	21	30	49	2.285
20	0.0125+/-0.0007	43	26	31	1.870
40	0.0050+/-0.0007	50	31	19	1.675
80	0.0010+/-0.0007	74	26	0	1.225
100	0.0000+/-0.0000	-	-	-	-

TABLA 5. EFECTO DE LA 7 α -ACETOXIROYLEANONA SOBRE EL INDICE MITOTICO Y LA CINETICA DE PROLIFERACION CELULAR.

PROMEDIO DE LOS 3 EXPERIMENTOS: DBL

CONCENTRACION (μ M)	IM	M1	M2	M3	IR
C+	*0.0013+/-0.0002	85	11	4	*1.088
CD	0.0186+/-0.0029	15	34	51	*2.384
0	0.0199+/-0.0027	14	32	54	2.438
10	*0.0178+/-0.0032	13	35	52	2.385
20	*0.0154+/-0.0034	24	38	38	*2.109
40	*0.0081+/-0.0027	32	40	28	*1.947
80	*0.0037+/-0.0019	68	25	7	*1.370
100	*0.0000+/-0.0000	-	-	-	-

PROMEDIO DE LOS 3 EXPERIMENTOS: LHH

CONCENTRACION (μ M)	IM	M1	M2	M3	IR
C+	*0.0013+/-0.0004	72	27	1	*1.300
CD	*0.0179+/-0.0035	15	28	57	2.427
0	0.0192+/-0.0034	15	27	58	2.440
10	*0.0147+/-0.0018	18	31	51	*2.330
20	*0.0099+/-0.0013	25	37	38	*2.176
40	*0.0067+/-0.0025	31	40	29	*1.990
80	*0.0032+/-0.0012	54	34	12	*1.667
100	*0.0000+/-0.0000	-	-	-	-

PROMEDIO DE LOS 3 EXPERIMENTOS: EHH

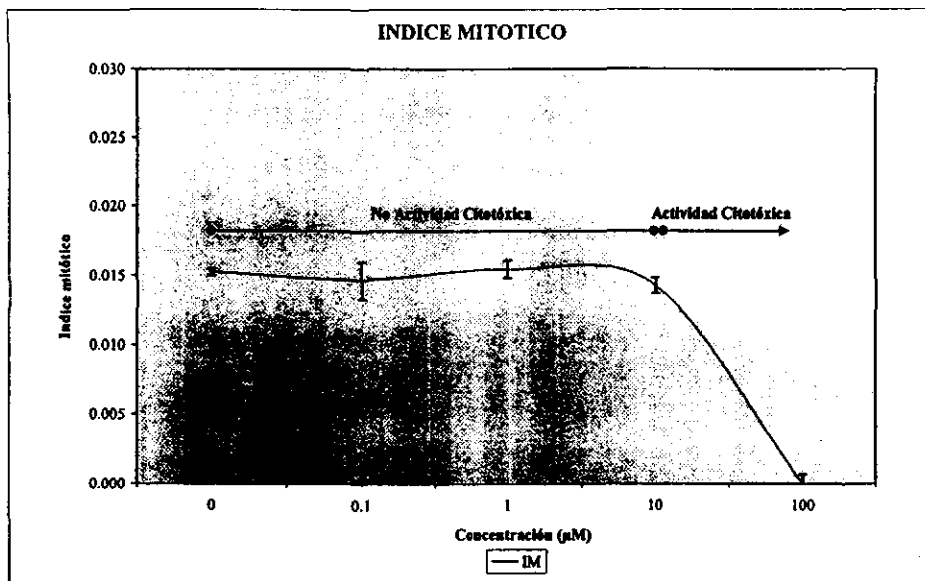
CONCENTRACION (μM)	IM	M1	M2	M3	IR
C+	*0.0009+/-0.0001	73	27	0	*1.235
CD	0.0188+/-0.0018	13	30	57	2.401
0	0.0199+/-0.0010	12	35	53	2.391
10	*0.0166+/-0.0017	14	33	53	2.36
20	*0.0140+/-0.0049	18	30	52	*2.307
40	*0.0086+/-0.0033	23	37	40	*2.150
80	*0.0045+/-0.0039	38	38	24	*1.820
100	*0.0017+/-0.0019	56	33	11	1*.445

PROMEDIO DE LOS 3 EXPERIMENTOS: GBO

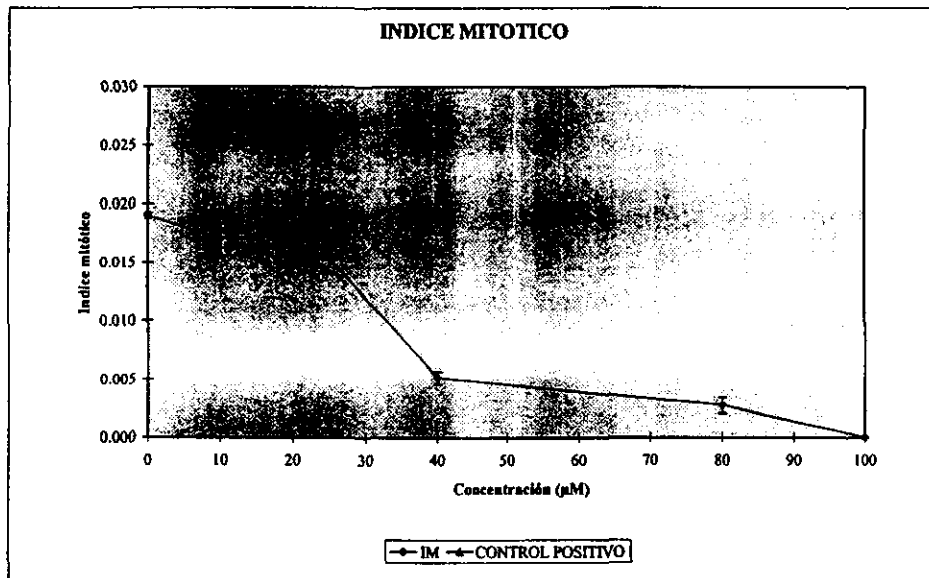
CONCENTRACION (μM)	IM	M1	M2	M3	IR
C+	*0.0018+/-0.0006	79	21	0	*1.186
CD	0.0175+/-0.0005	17	31	52	2.381
0	0.0182+/-0.0005	14	30	56	2.413
10	*0.0124+/-0.0030	40	27	33	*1.928
20	*0.0100+/-0.0025	48	31	21	*1.726
40	*0.0049+/-0.0021	69	22	9	*1.393
80	*0.0019+/-0.0025	89	11	0	*1.106
100	*0.0000+/-0.0000	-	-	-	-

*p < 0.005, prueba T de Student con respecto al control negativo.

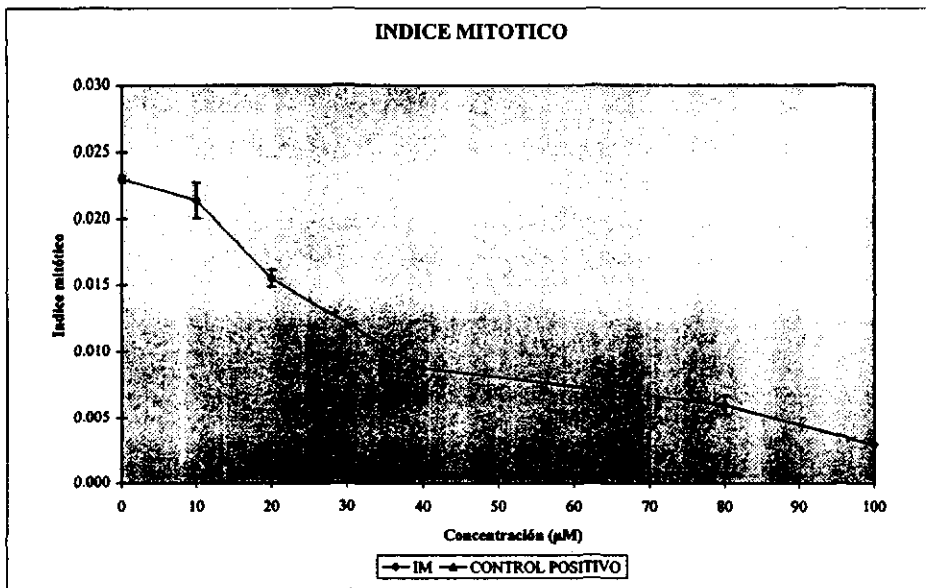
Gráfica No.1 Evaluación del rango de actividad de la 7 α -acetoxiroileanona



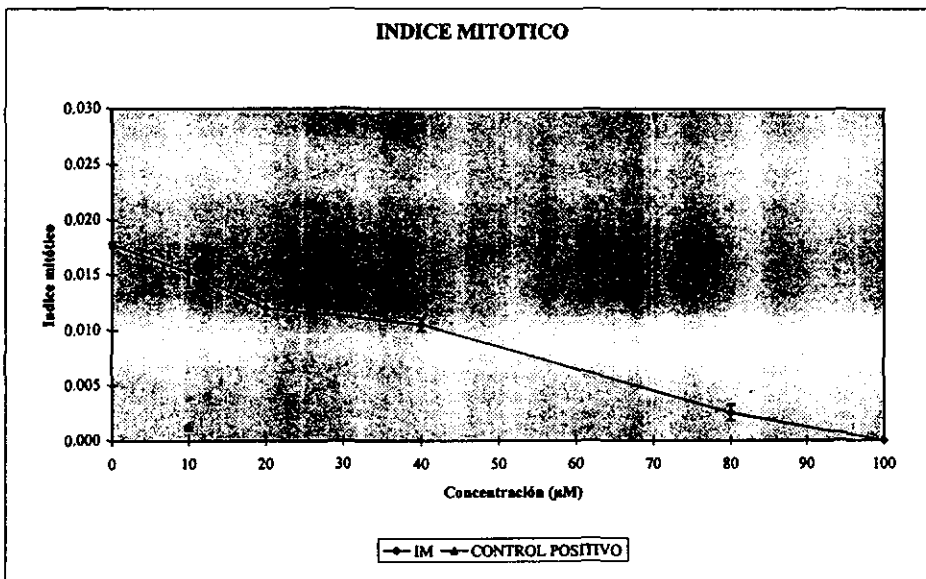
Gráfica No.2 Evaluación del Índice Mitótico. Donador DBL (10-02-97)



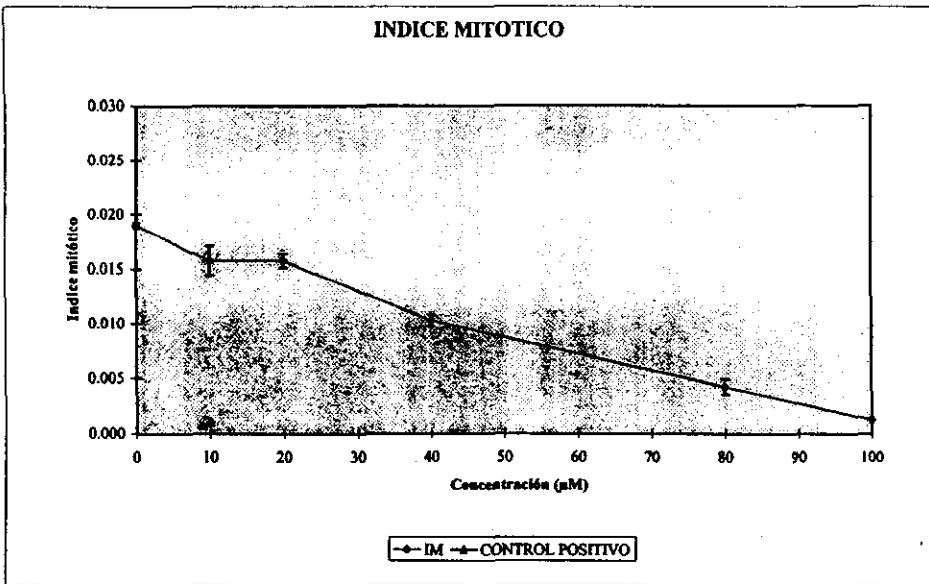
Gráfica No.3 Evaluación del Índice Mitótico. Donador DBL (19-05-97)



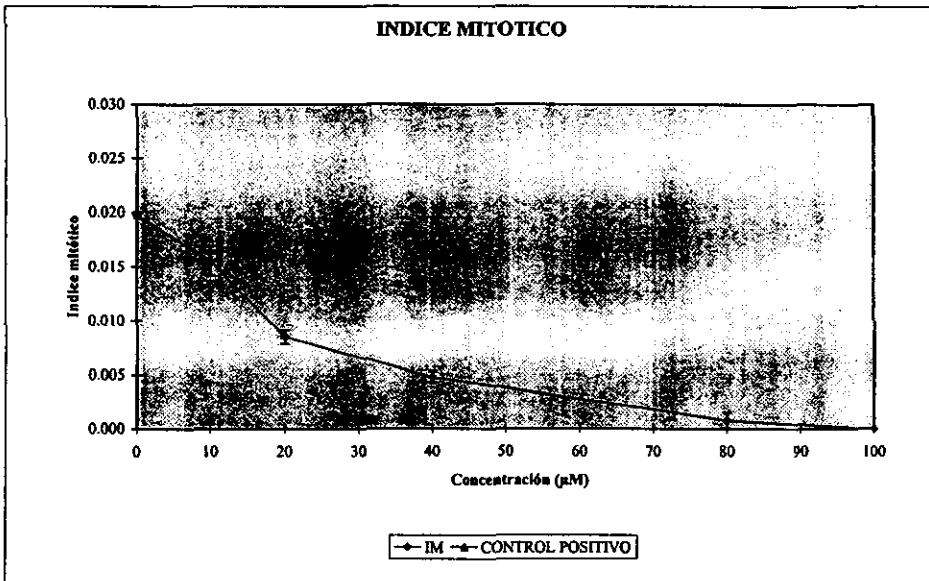
Gráfica No.4 Evaluación del Índice Mitótico. Donador DBL (08-09-97)



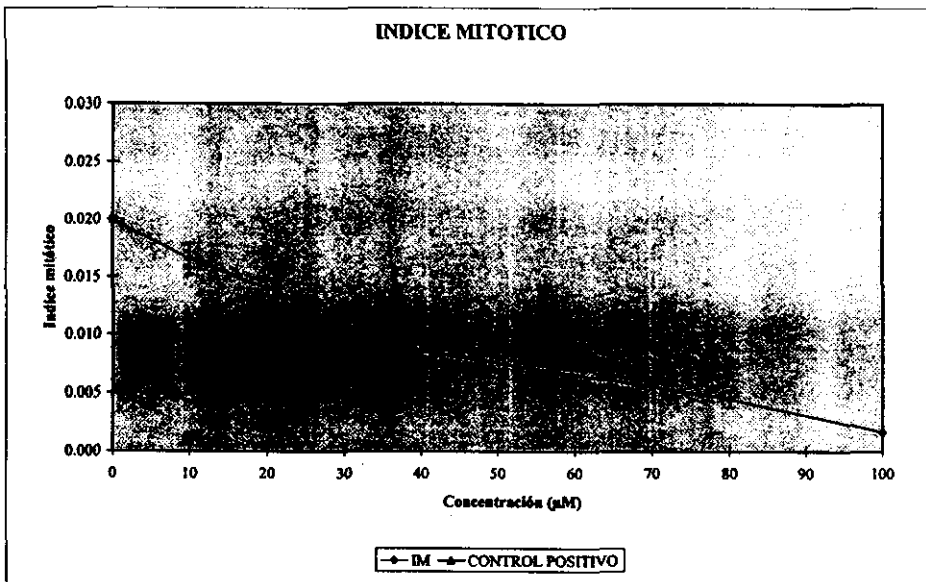
Gráfica No.7 Evaluación del Índice Mitótico. Donador EHH (25-08-97)



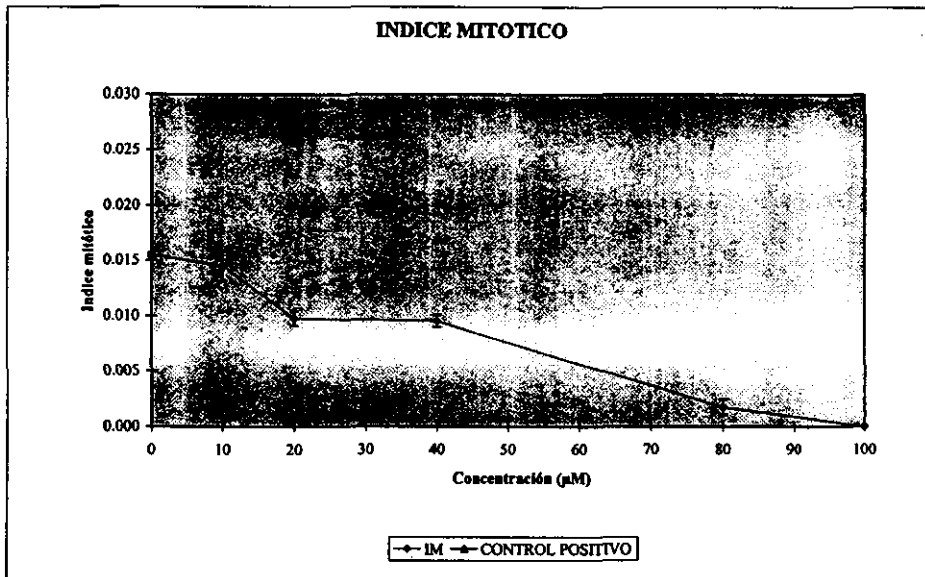
Gráfica No.8 Evaluación del Índice Mitótico. Donador EHH (10-11-97)



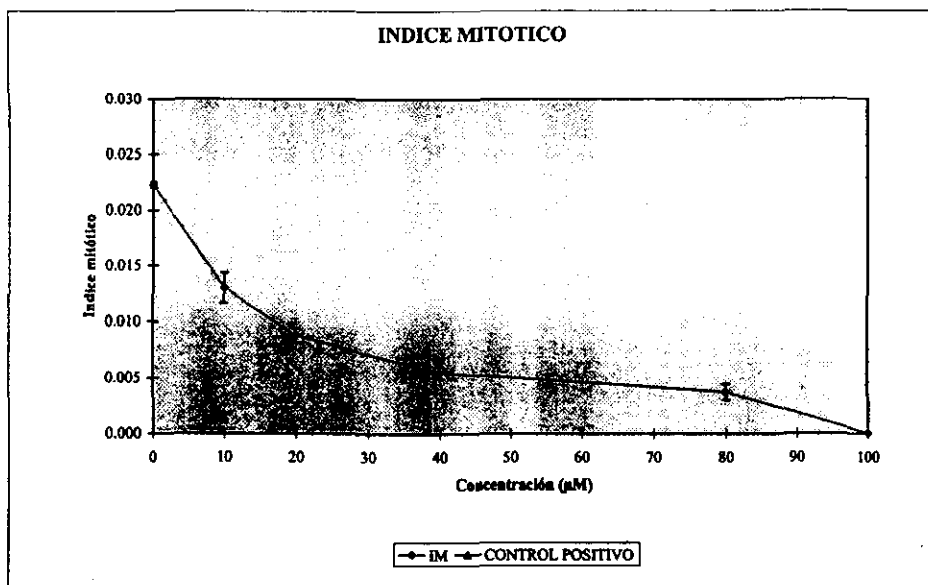
Gráfica No.9 Evaluación del Índice Mitótico. Donador EHH (PROMEDIO)



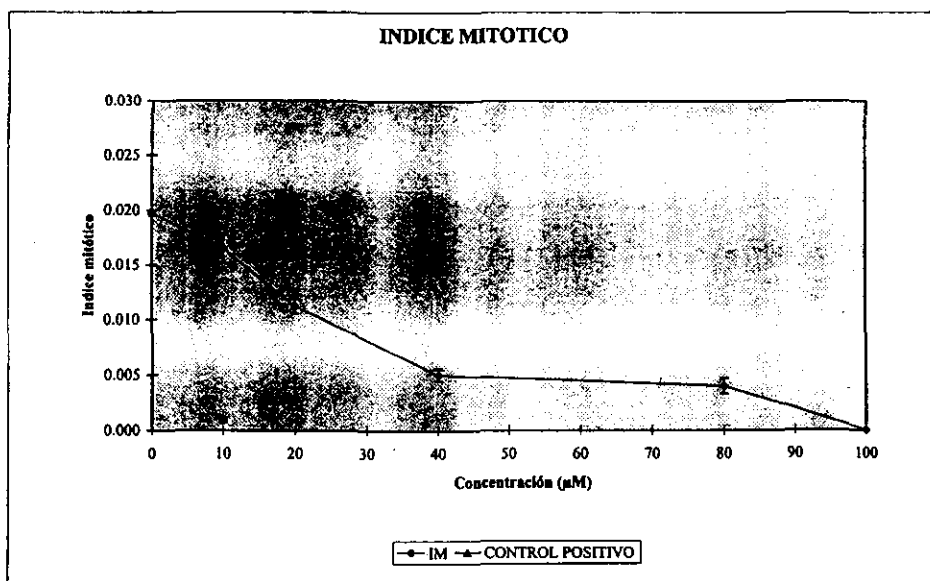
Gráfica No.10 Evaluación del Índice Mitótico. Donador LHH (5-5-97)



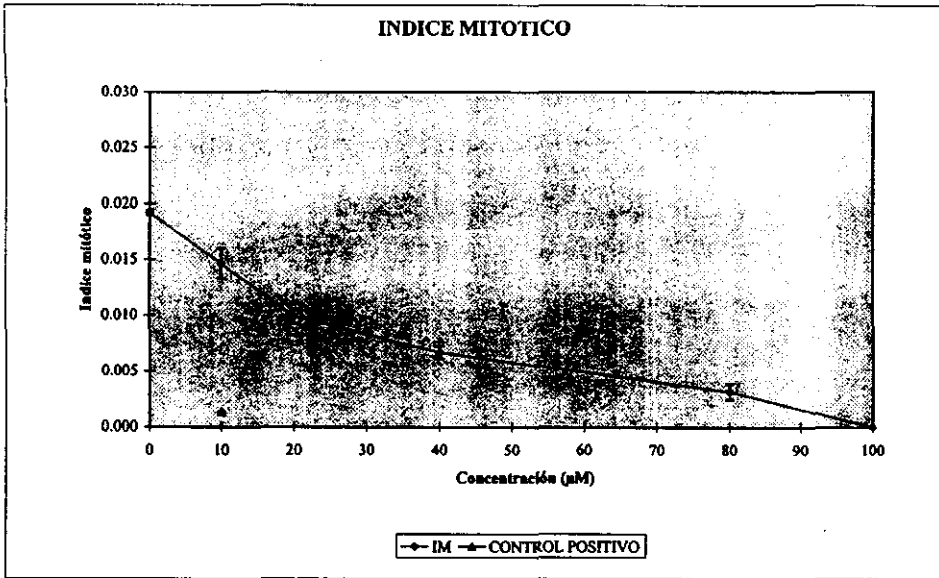
Gráfica No.11 Evaluación del Índice Mitótico. Donador LHH (7-7-97)



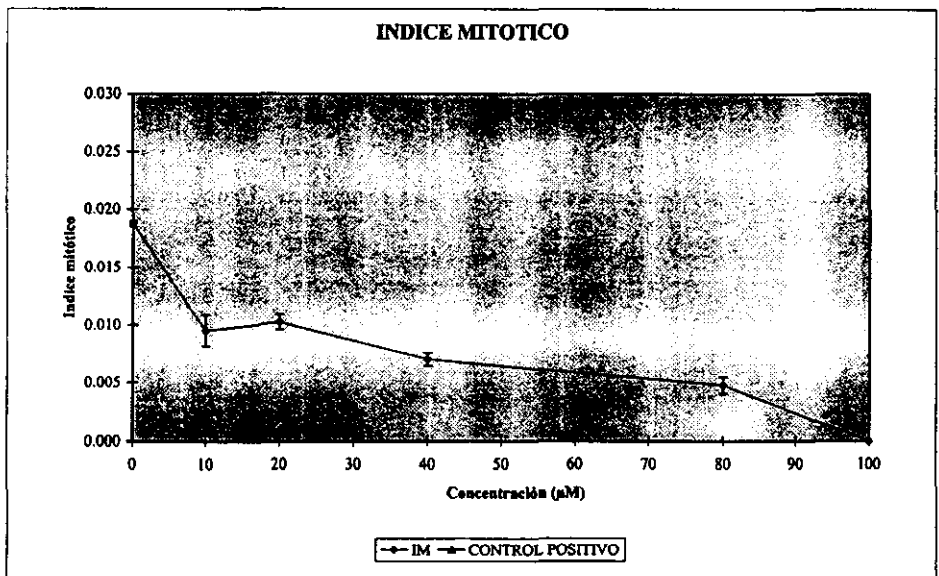
Gráfica No.12 Evaluación del Índice Mitótico. Donador LHH (9-2-98)



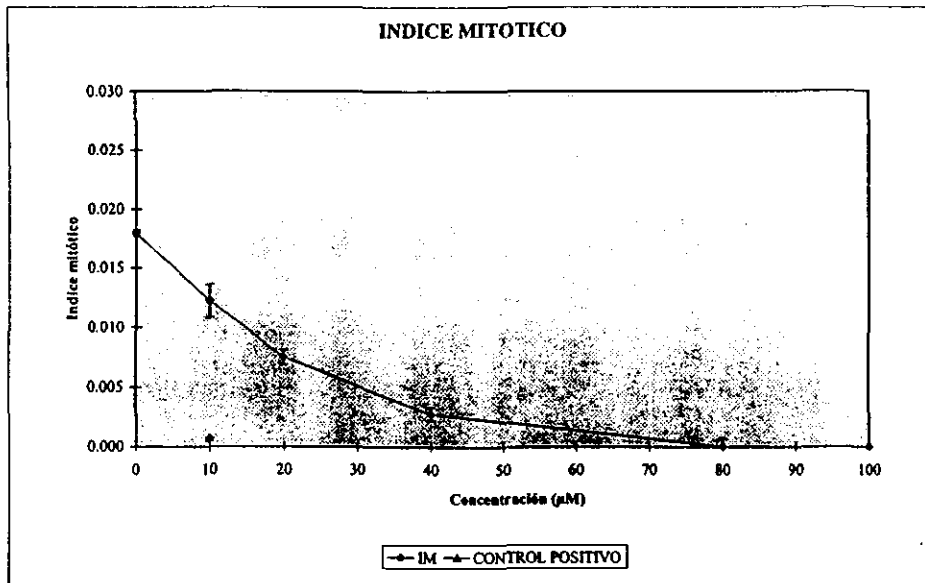
Gráfica No.13 Evaluación del Índice Mitótico. Donador LHH (PROMEDIO)



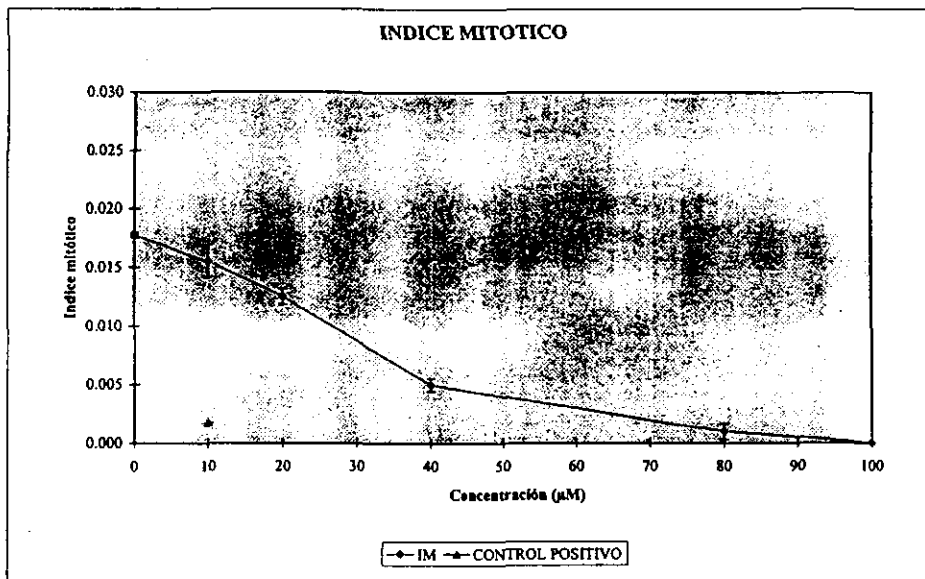
Gráfica No.14 Evaluación del Índice Mitótico. Donador GBO(9-2-98)



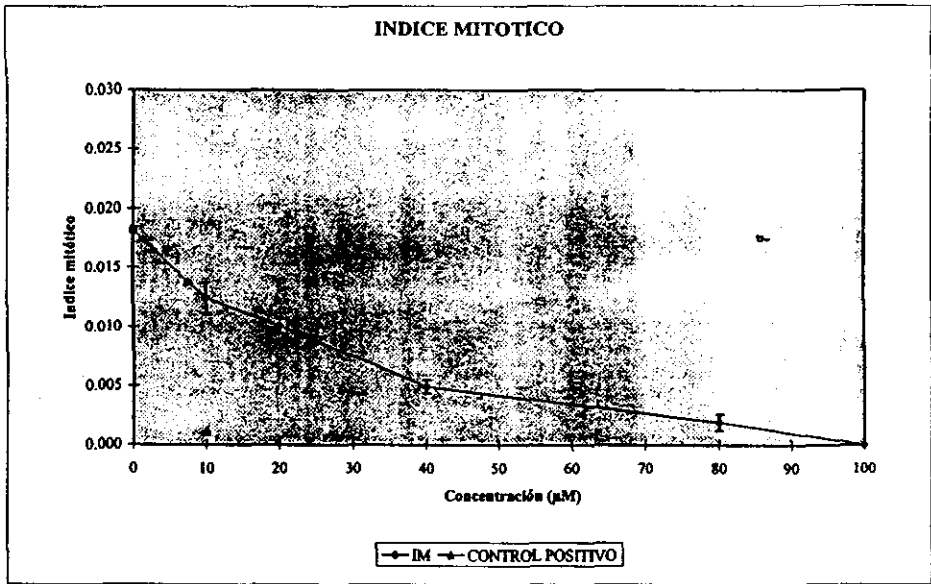
Gráfica No.15 Evaluación del Índice Mitótico. Donador GBO(2-2-98)



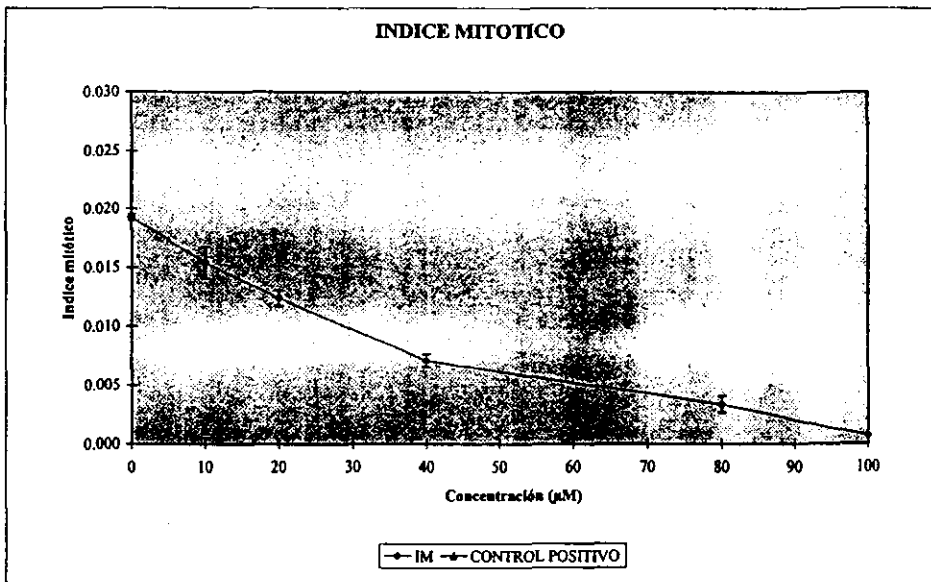
Gráfica No.16 Evaluación del Índice Mitótico. Donador GBO(16-2-98)



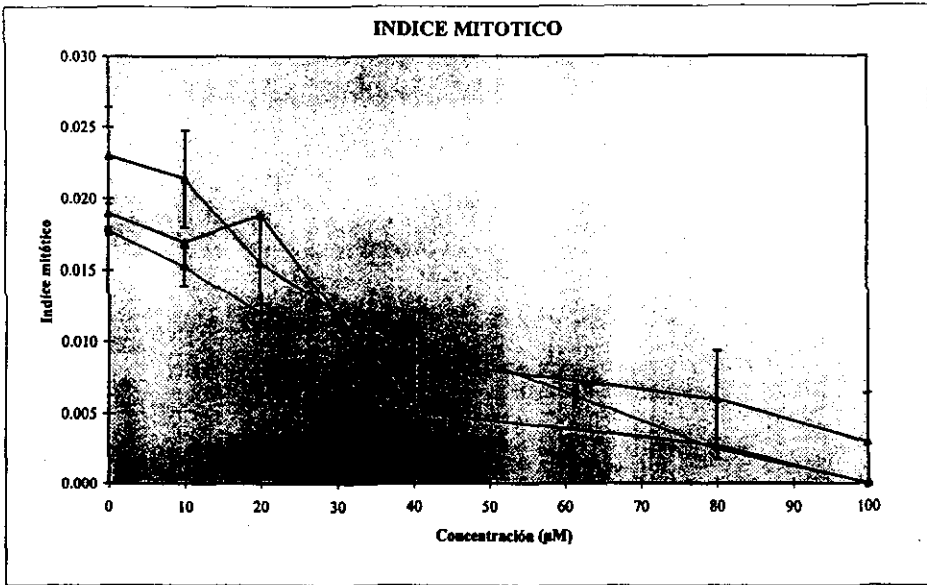
Gráfica No.17 Evaluación del Índice Mitótico. Donador GBO(PROMEDIO)



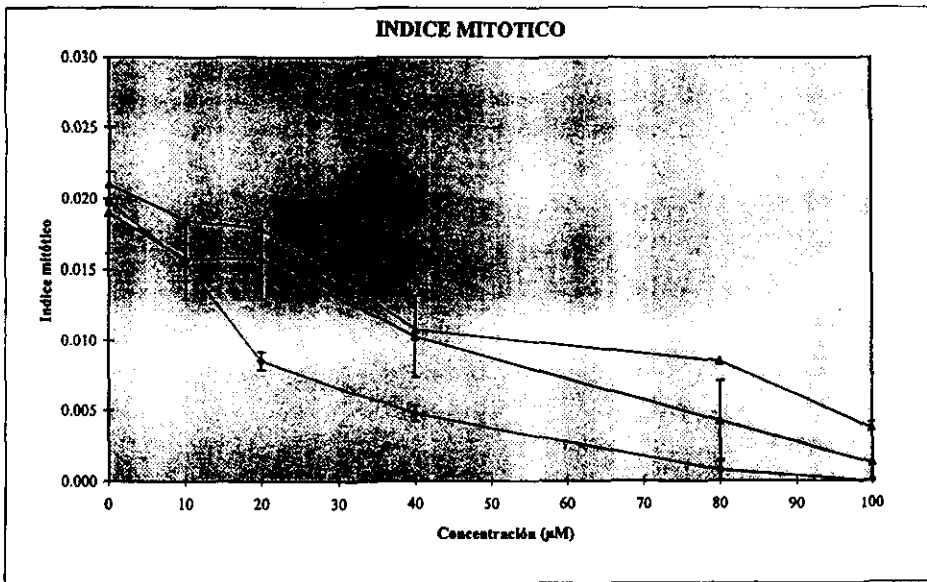
Gráfica No.18 Evaluación del Índice Mitótico. Donador PROMEDIO DE LOS CUATRO DONADORES



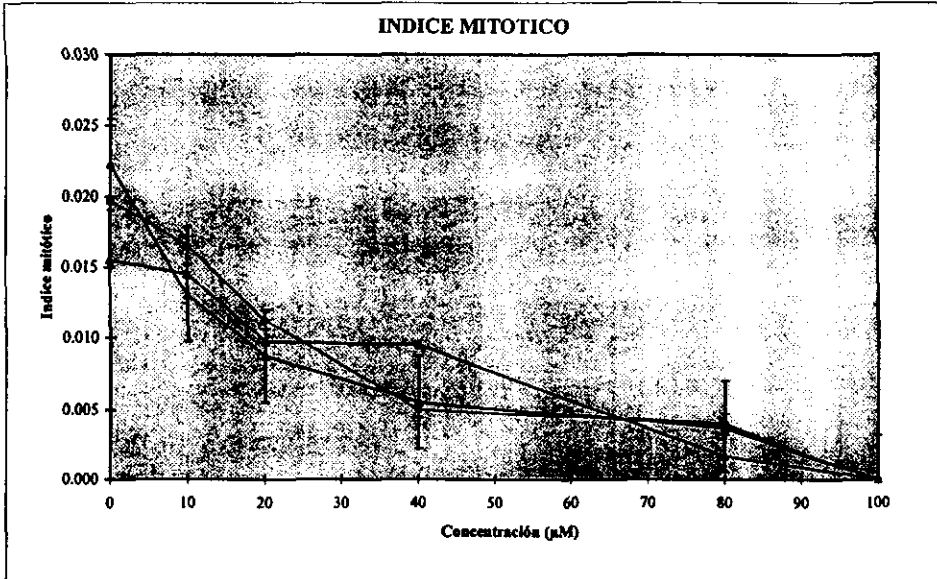
Gráfica No.19 Evaluación del Índice Mitótico. Donador DBL



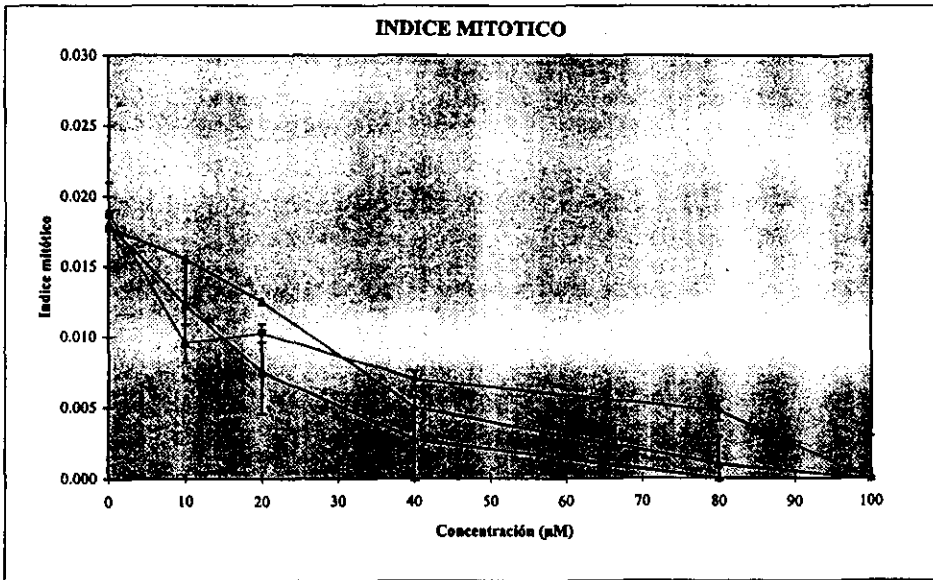
Gráfica No.20 Evaluación del Índice Mitótico. Donador EHH



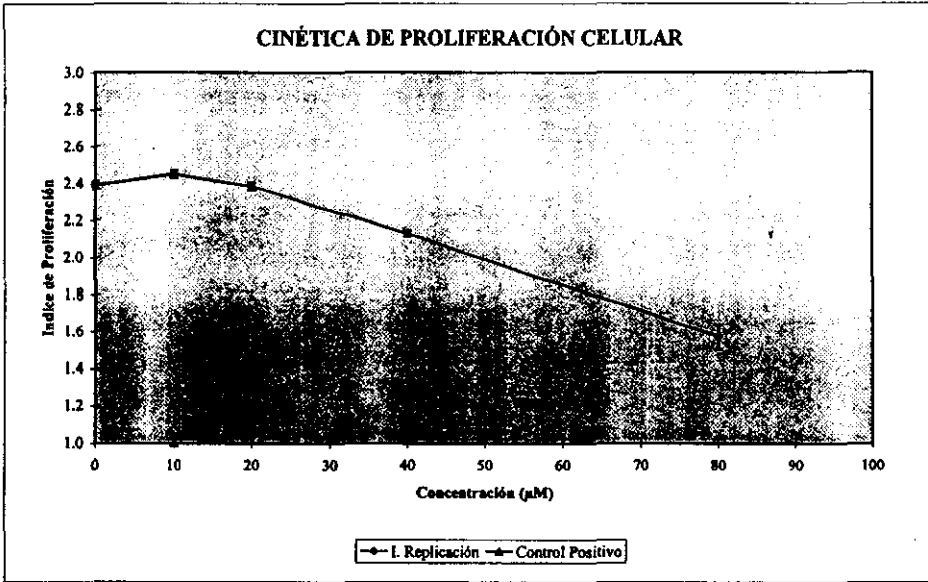
Gráfica No.21 Evaluación del Índice Mitótico. Donador LHH



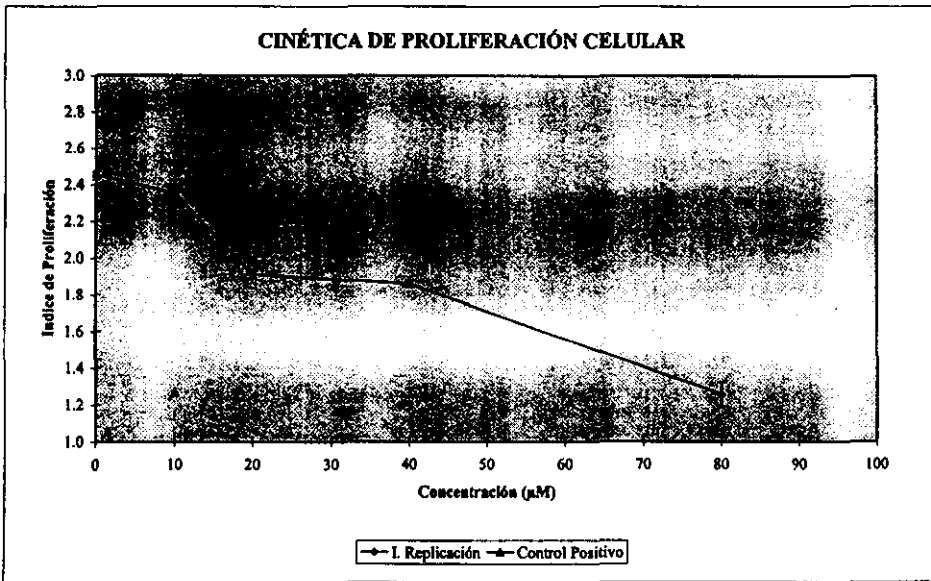
Gráfica No.22 Evaluación del Índice Mitótico. Donador GBO



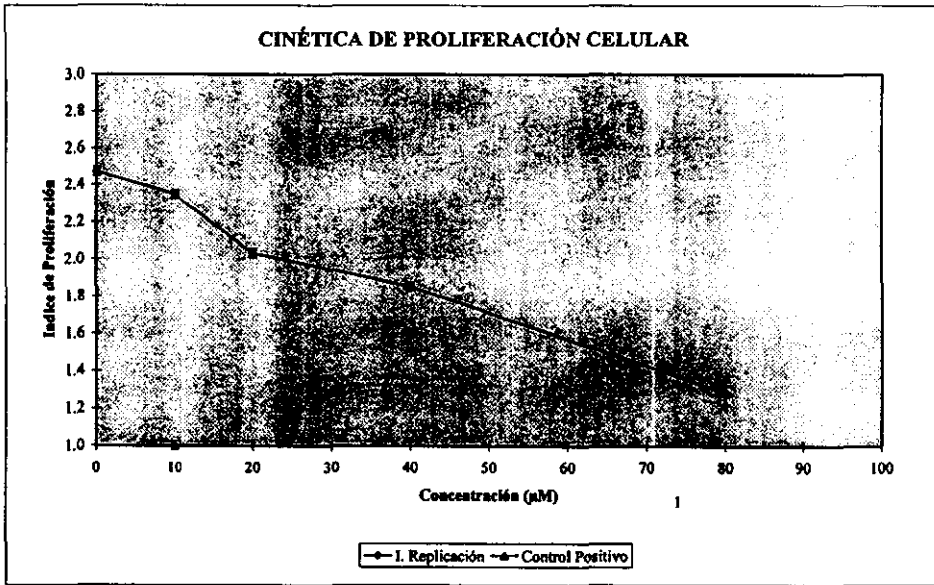
Gráfica No.23 Evaluación de la Cinética de Proliferación Celular. Donador DBL (19-05-97)



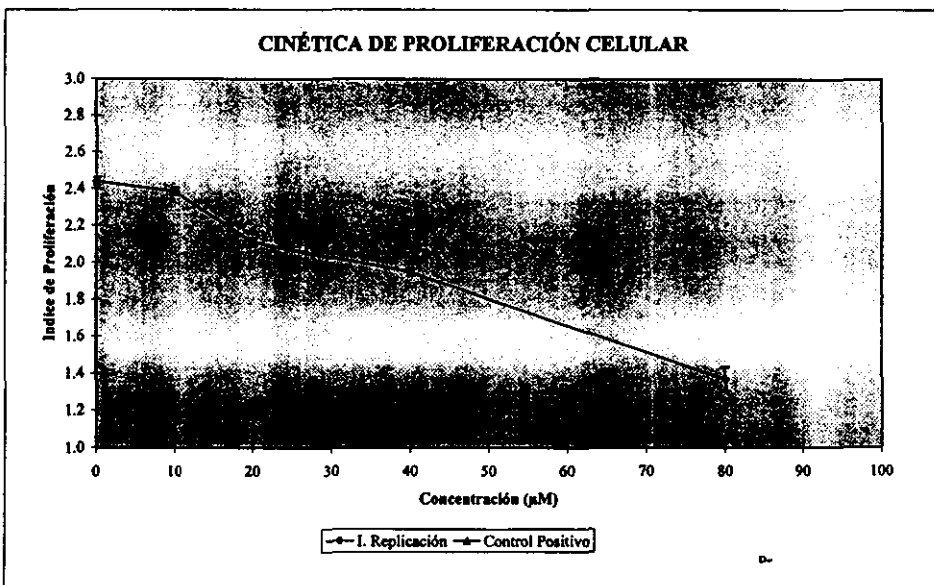
Gráfica No.24 Evaluación de la Cinética de Proliferación Celular. Donador DBL (8-09-97)



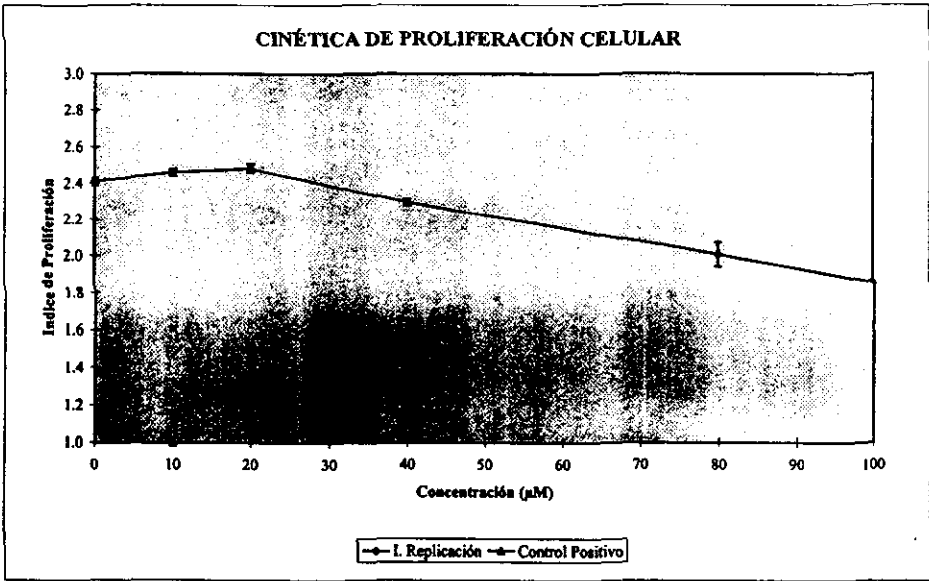
Gráfica No.25 Evaluación de la Cinética de Proliferación Celular. Donador DBL (10-02-97)



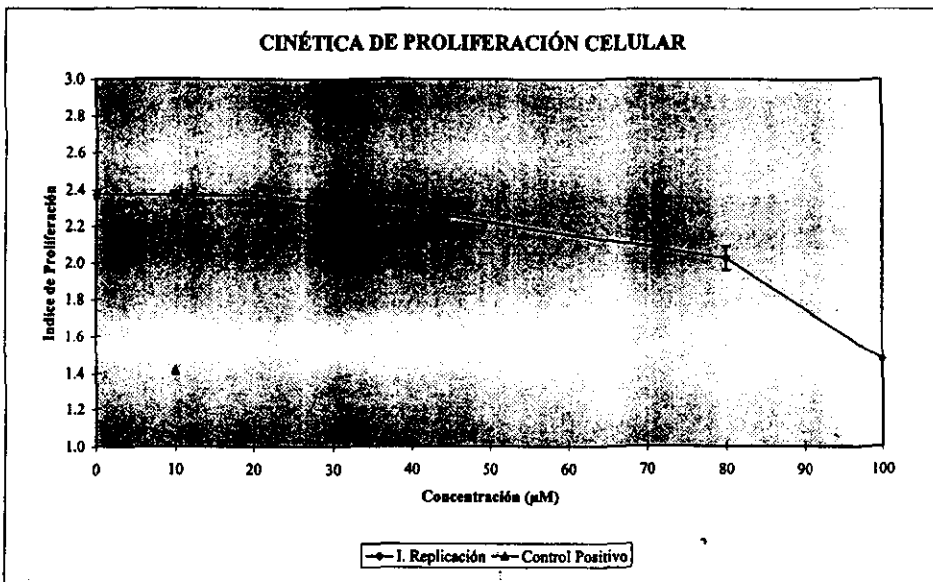
Gráfica No.26 Evaluación de la Cinética de Proliferación Celular. Donador DBL (PROMEDIO)



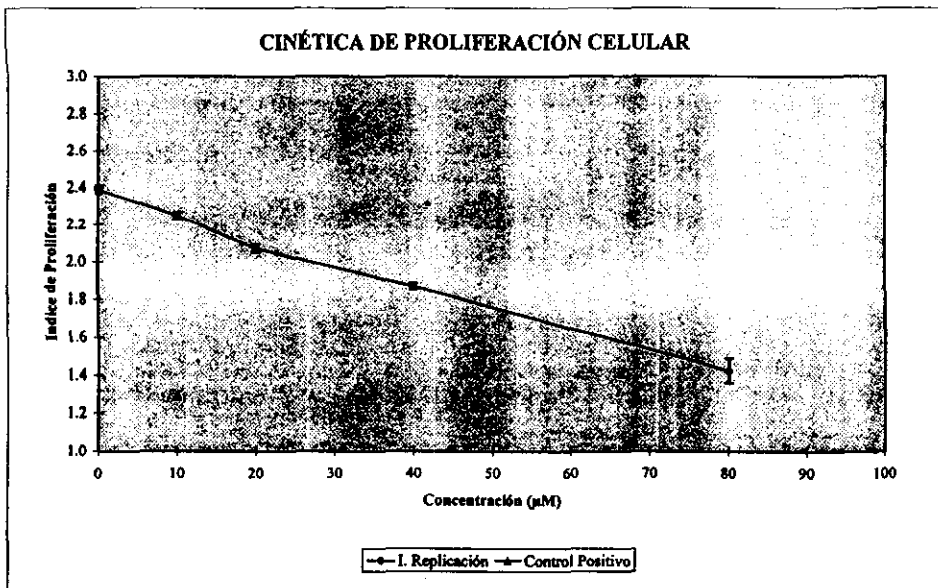
Gráfica No.27 Evaluación de la Cinética de Proliferación Celular. Donador EHH (25-08-97)



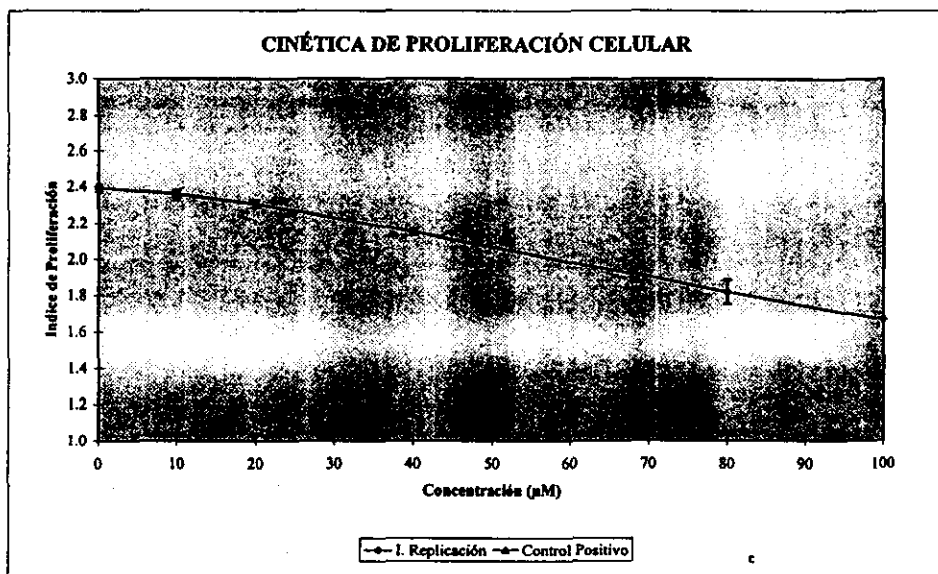
Gráfica No.28 Evaluación de la Cinética de Proliferación Celular. Donador EHH (10-11-97)



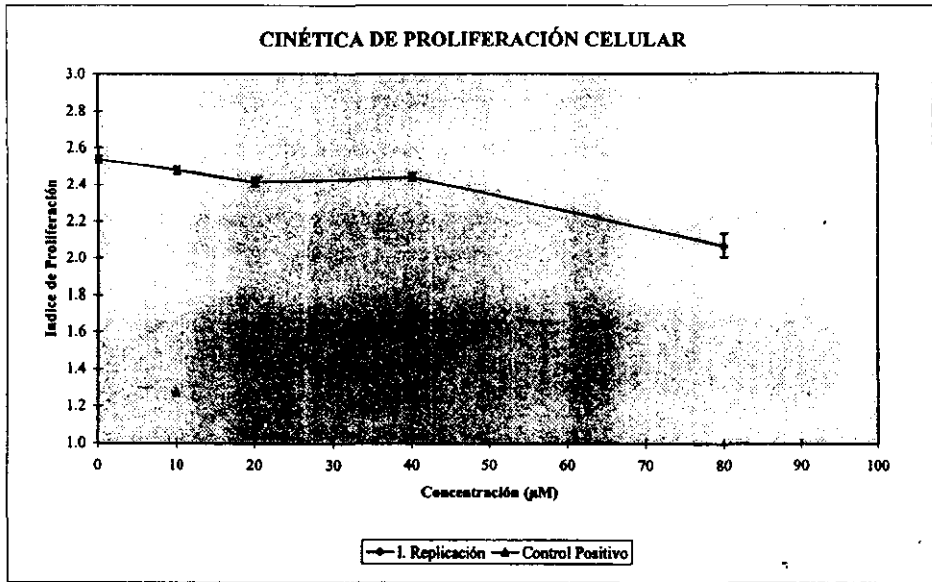
Gráfica No.29 Evaluación de la Cinética de Proliferación Celular. Donador EHH (9-06-97)



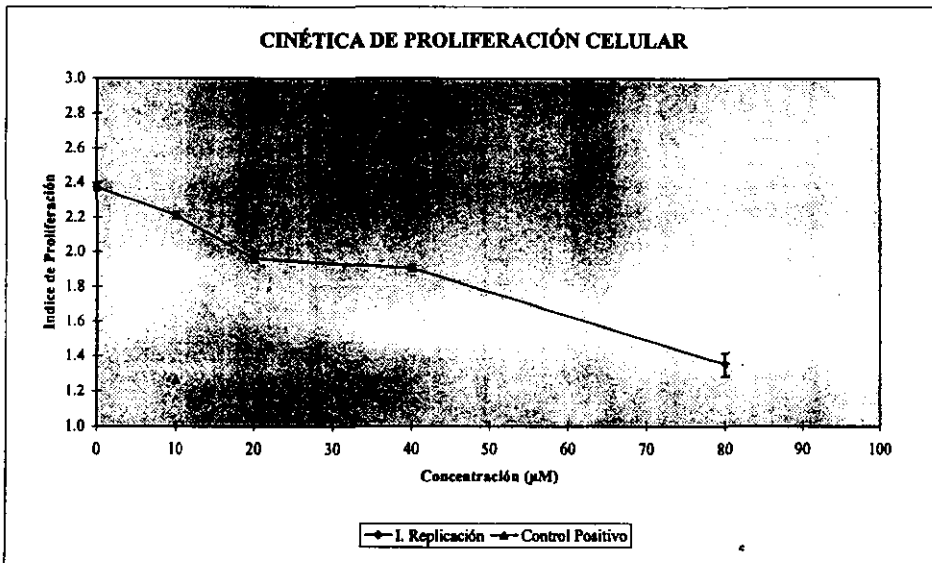
Gráfica No.30 Evaluación de la Cinética de Proliferación Celular. Donador EHH (PROMEDIO)



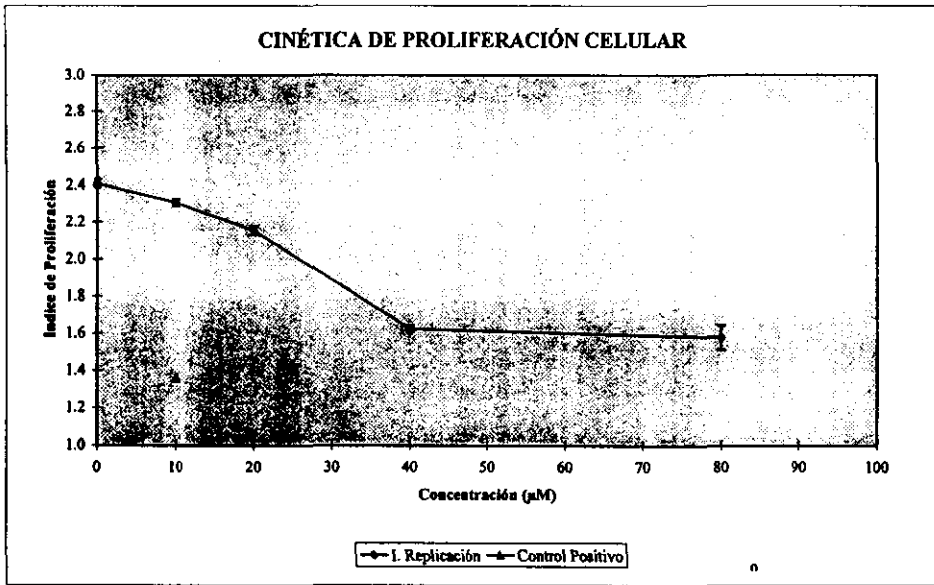
Gráfica No.31 Evaluación de la Cinética de Proliferación Celular. Donador LHH (5-5-97)



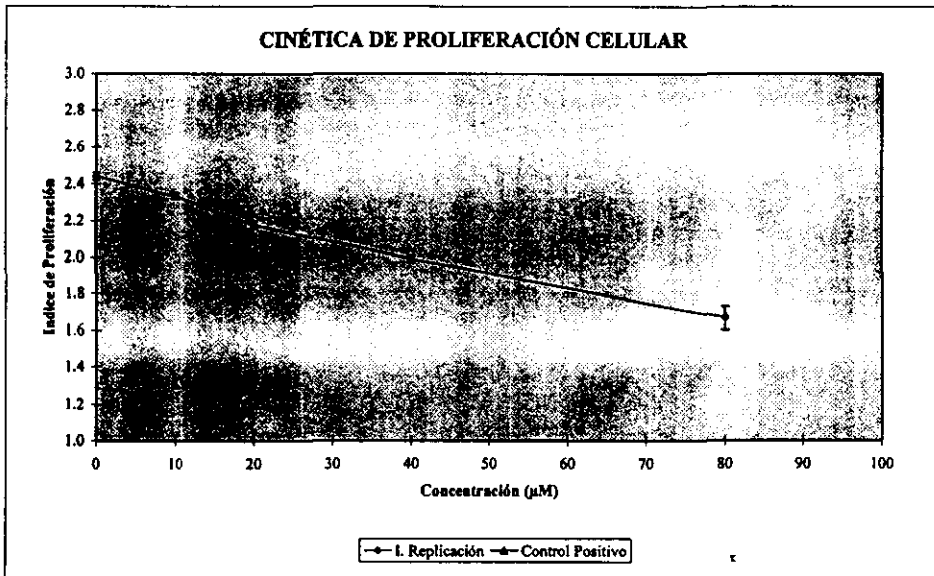
Gráfica No.32 Evaluación de la Cinética de Proliferación Celular. Donador LHH (7-7-97)



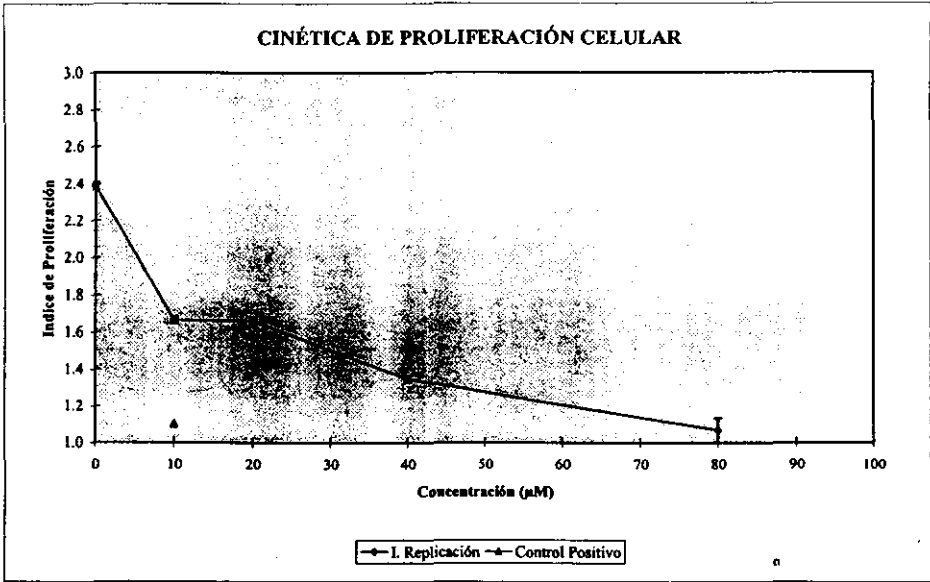
Gráfica No.33 Evaluación de la Cinética de Proliferación Celular. Donador LHH (9-2-98)



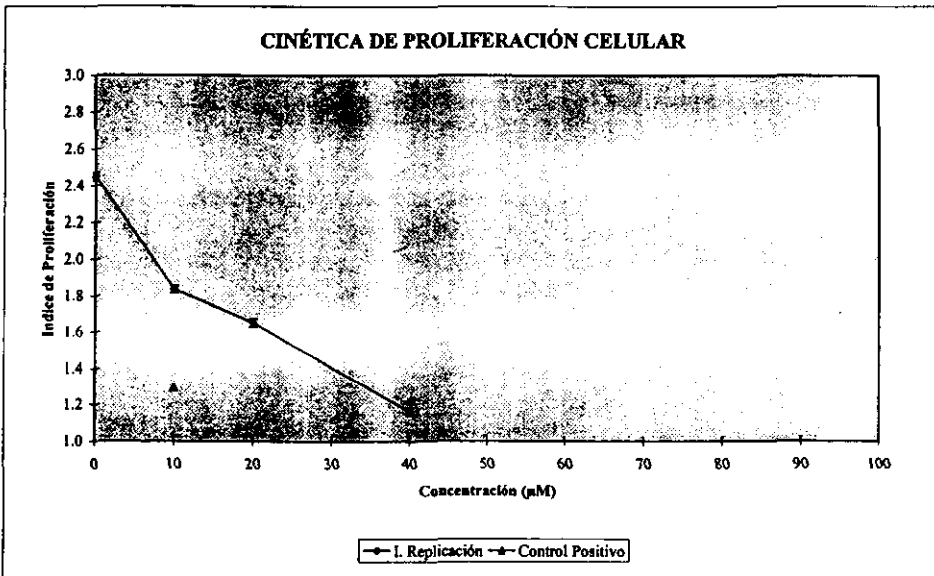
Gráfica No.34 Evaluación de la Cinética de Proliferación Celular. Donador LHH (PROMEDIO)



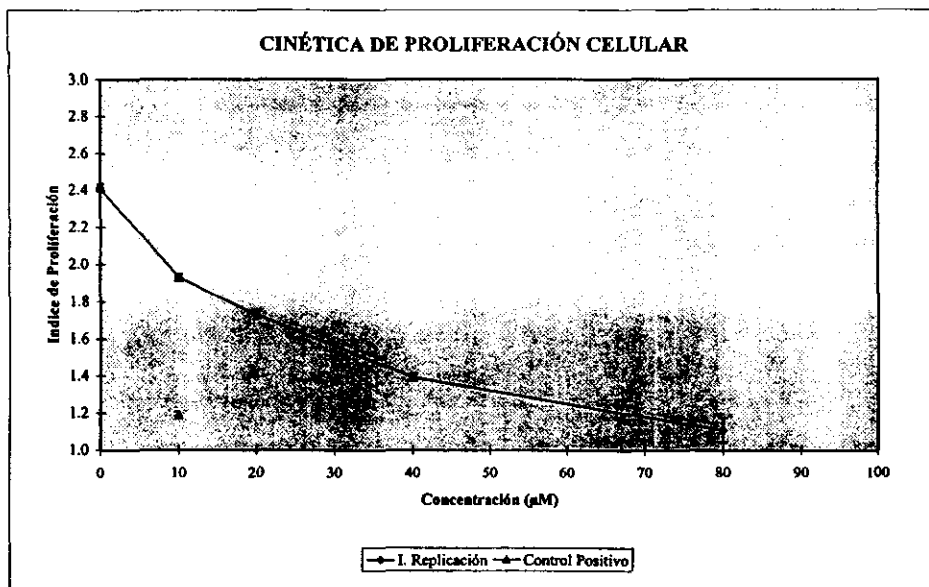
Gráfica No.35 Evaluación de la Cinética de Proliferación Celular. Donador GBO (9-02-98)



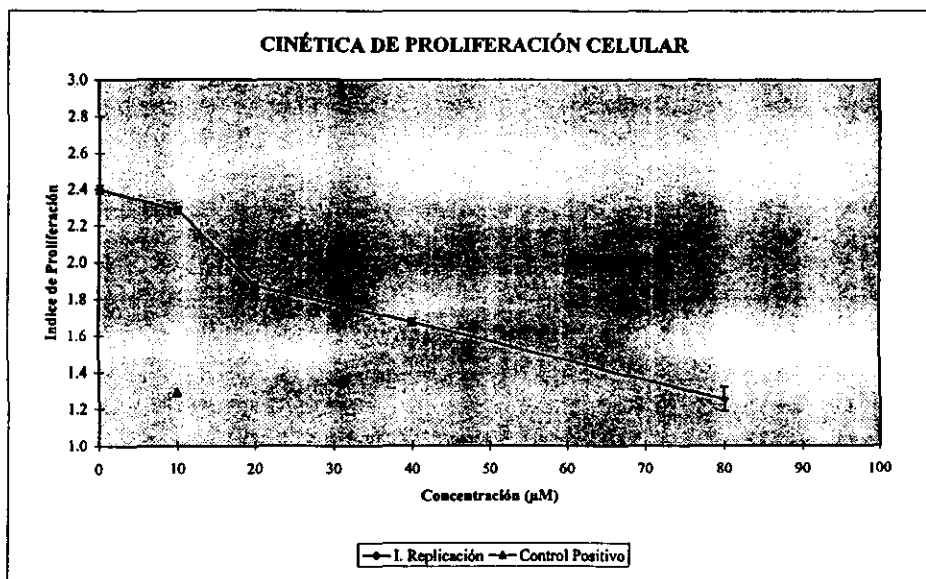
Gráfica No.36 Evaluación de la Cinética de Proliferación Celular. Donador GBO (2-02-98)



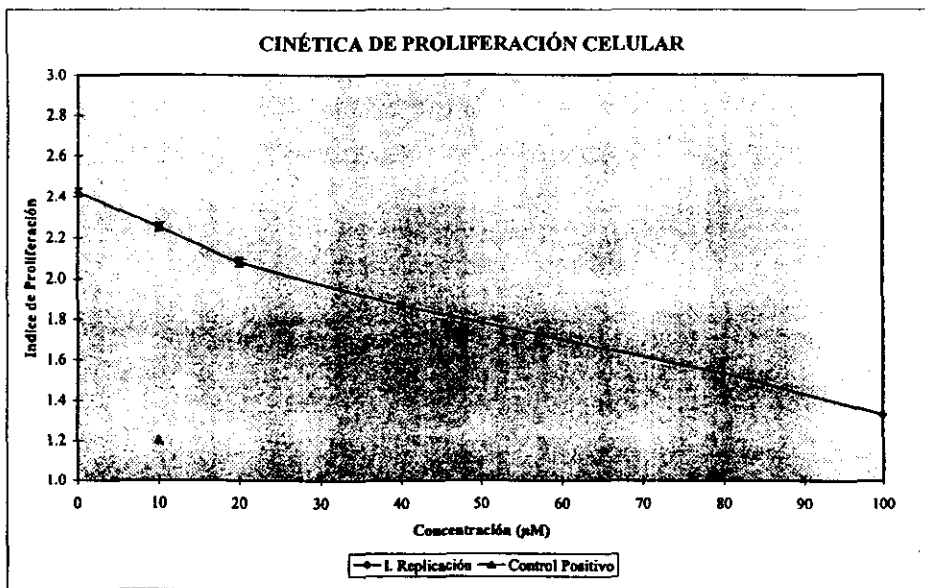
Gráfica No.37 Evaluación de la Cinética de Proliferación Celular. Donador GBO (10-02-98)



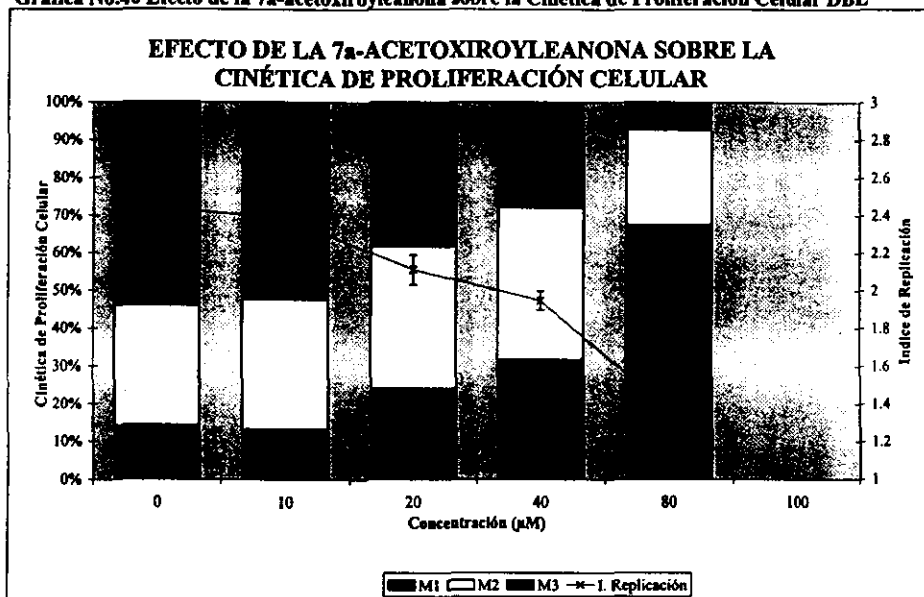
Gráfica No.38 Evaluación de la Cinética de Proliferación Celular. Donador GBO (PROMEDIO)



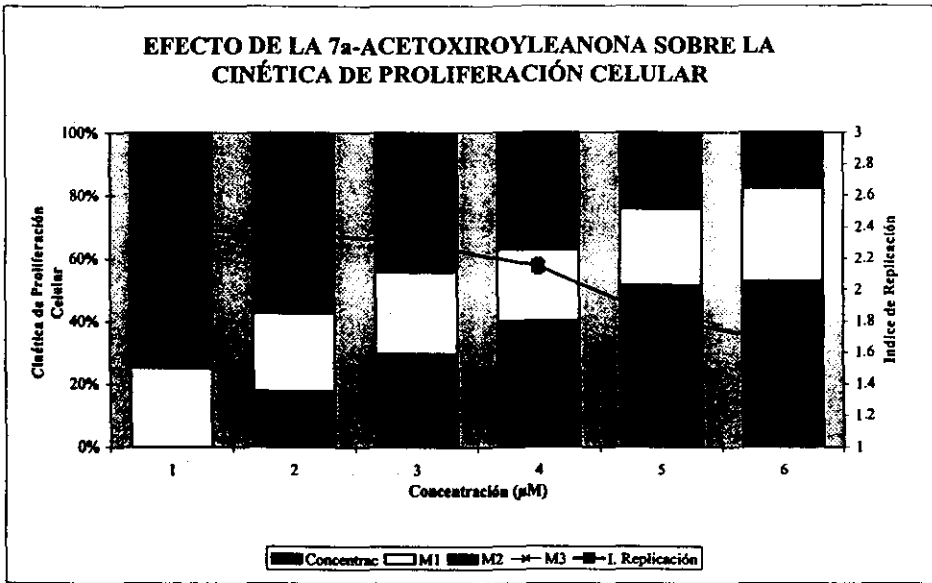
Gráfica No.39 Evaluación de la Cinética de Proliferación Celular. Donador PROMEDIO DE LOS CUATRO



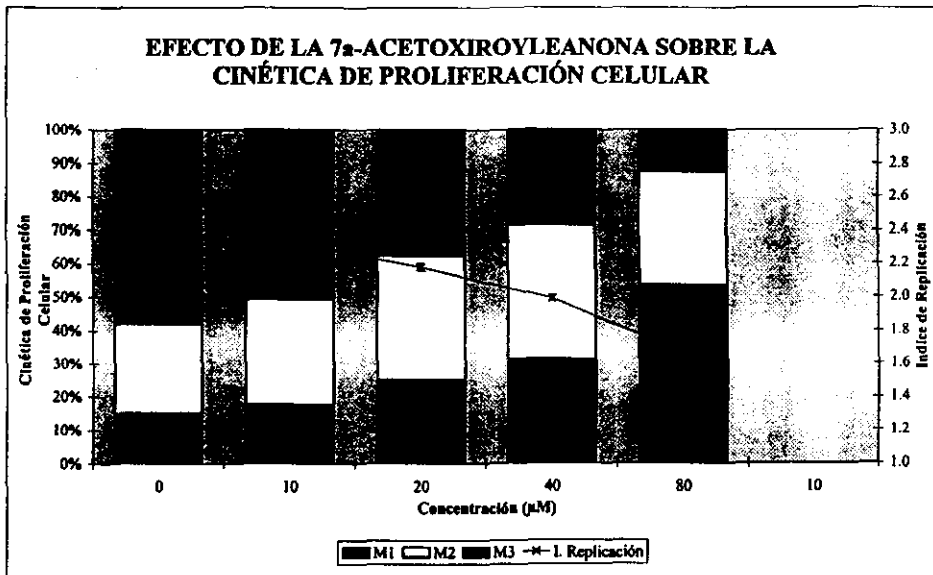
Gráfica No.40 Efecto de la 7 α -acetoxiroyleanona sobre la Cinética de Proliferación Celular DBL



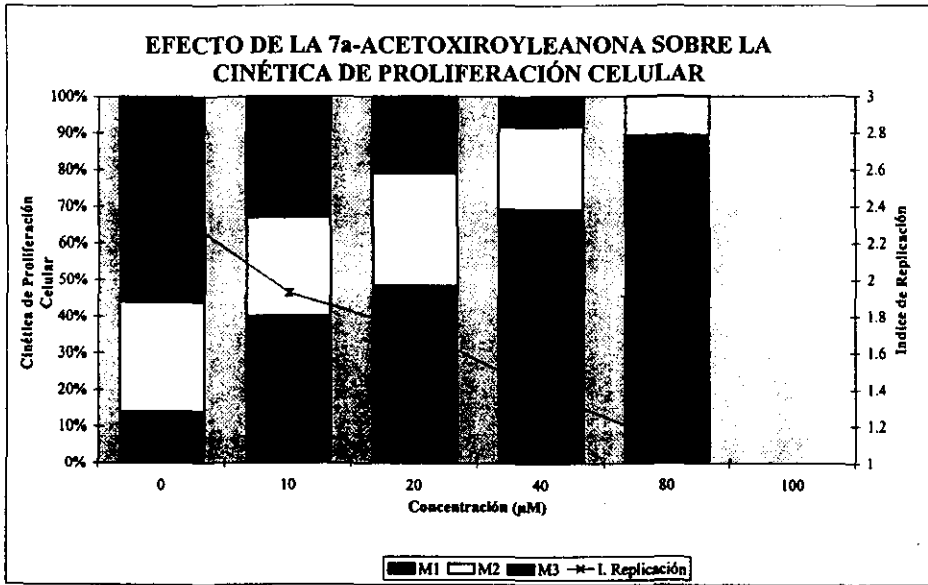
Gráfica No.41 Efecto de la 7 α -acetoxiroyleanona sobre la Cinética de Proliferación Celular EHH



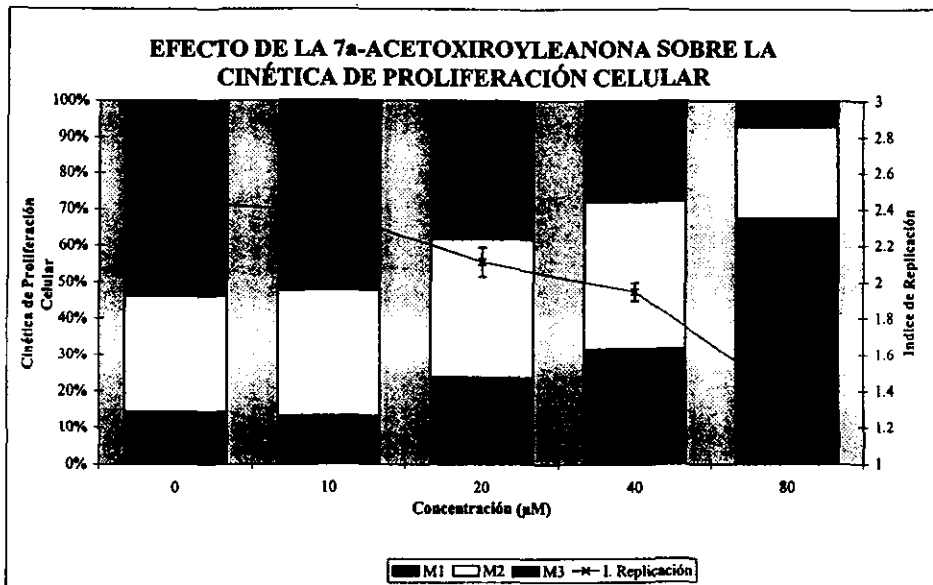
Gráfica No.42 Efecto de la 7 α -acetoxiroyleanona sobre la Cinética de Proliferación Celular LHH



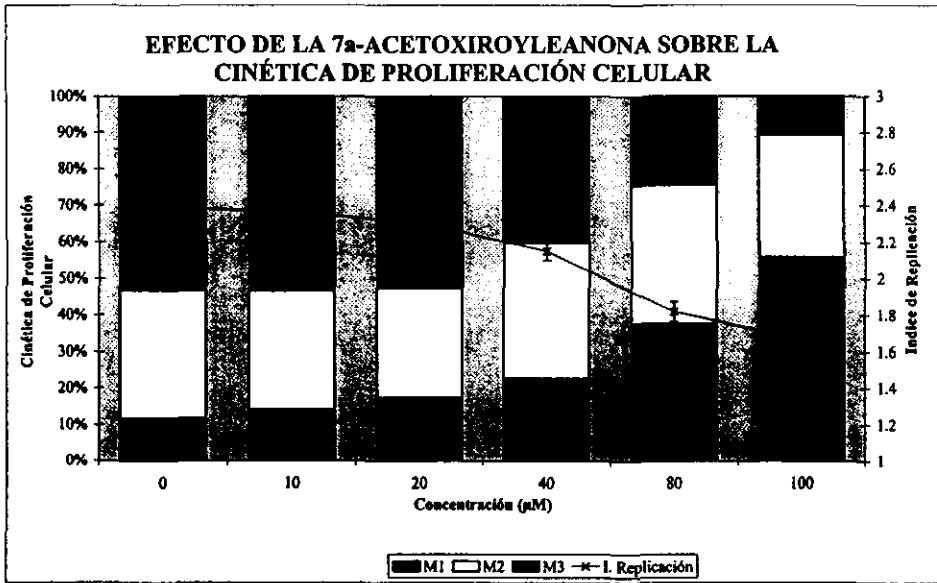
Gráfica No.43 Efecto de la 7a-acetoxiroyleanona sobre la Cinética de Proliferación Celular GBO



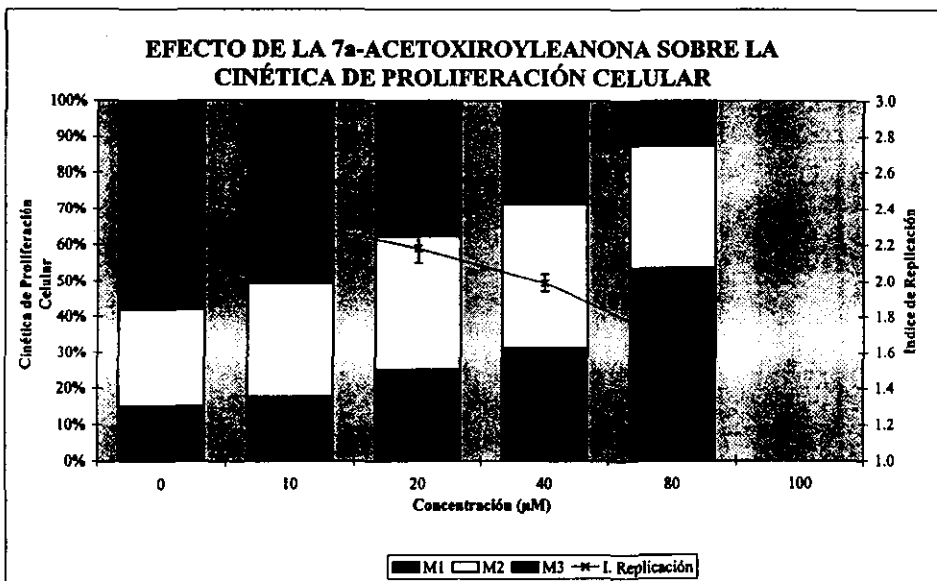
Gráfica No.44 Evaluación del Índice Mítico y Cinética de Proliferación Celular DBL



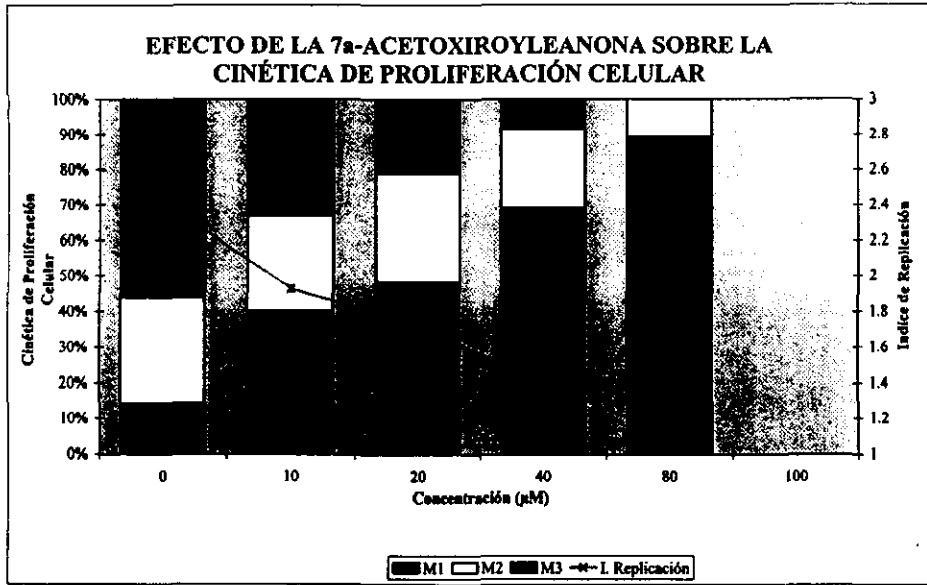
Gráfica No.45 Evaluación del Índice Mitótico y Cinética de Proliferación Celular EHH



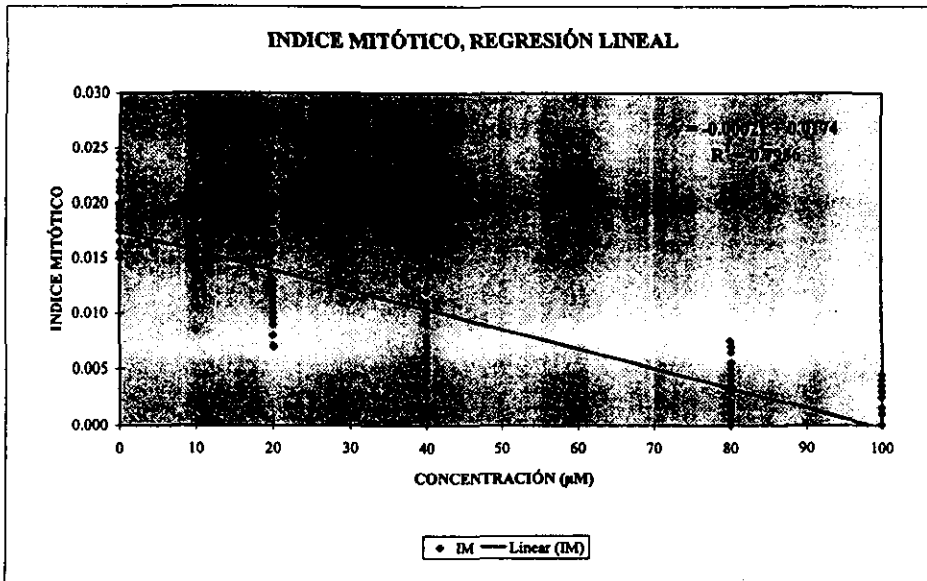
Gráfica No.46 Evaluación del Índice Mitótico y Cinética de Proliferación Celular LHH



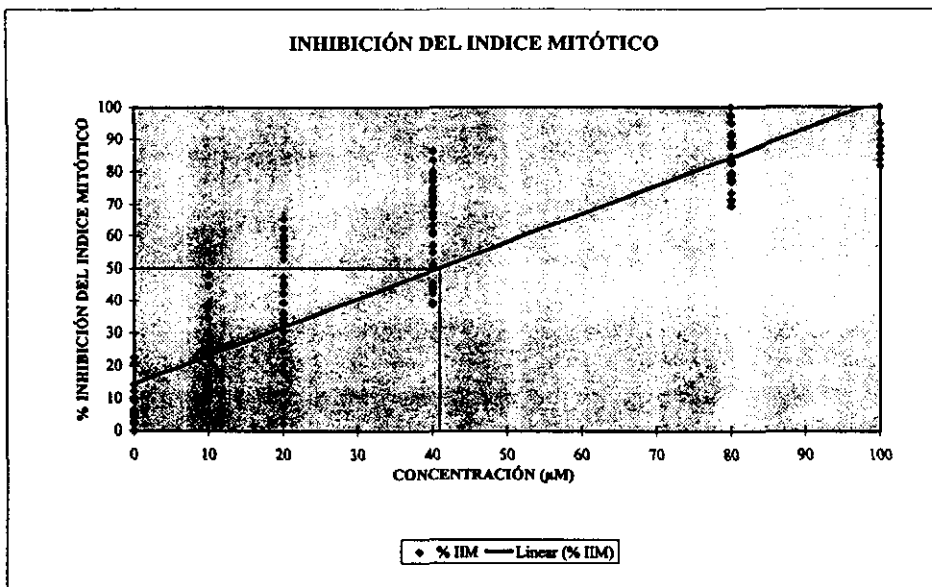
Gráfica No.47 Evaluación del Índice Mitótico y Cinética de Proliferación Celular GBO



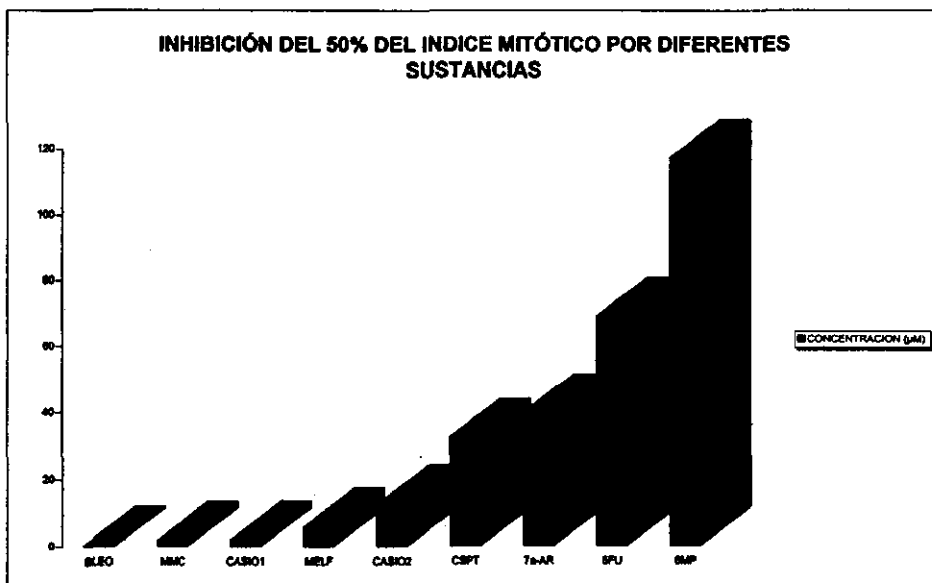
Gráfica No.48 Índice Mitótico, Regresión Lineal



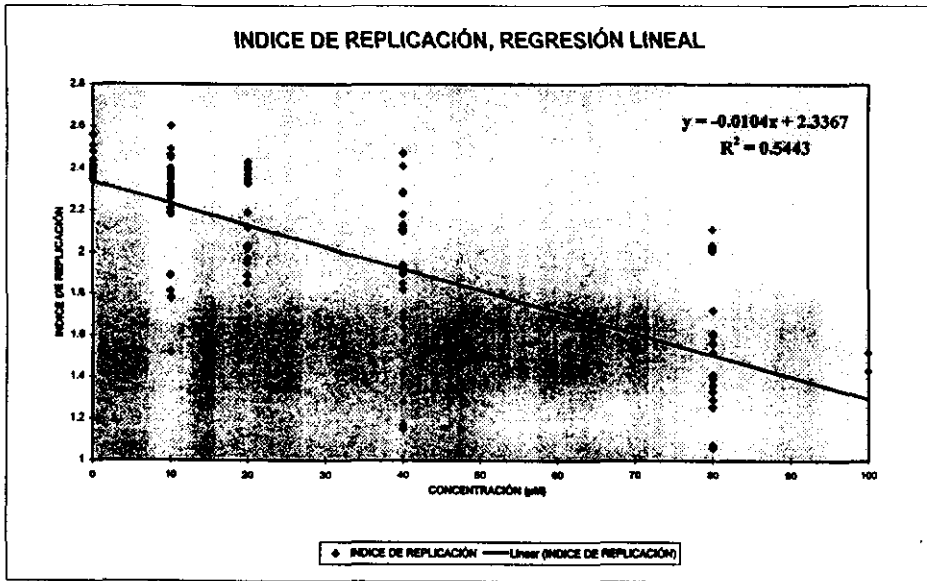
Gráfica No.49 Inhibición del Índice Mitótico



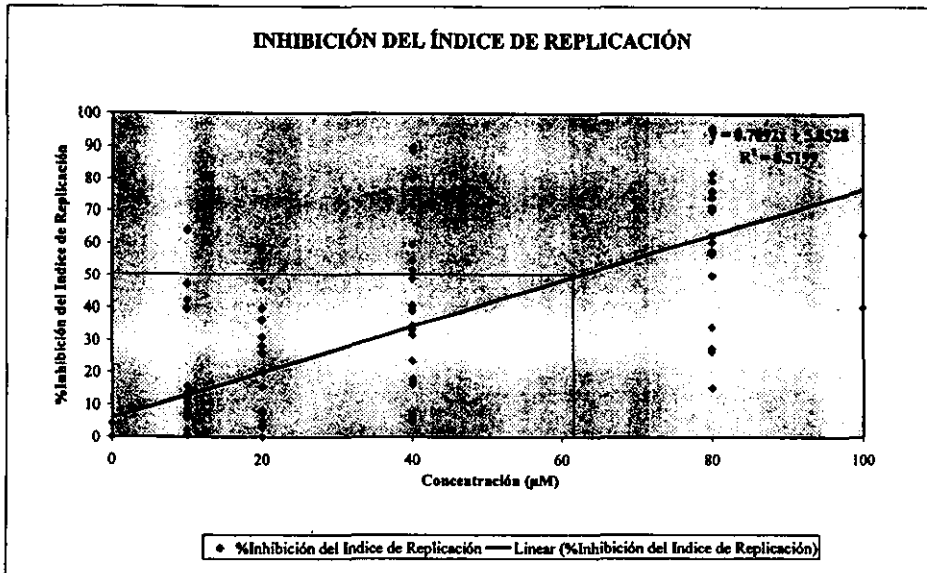
Gráfica No.50 Inhibición del 50% del Índice Mitótico por diferentes sustancias



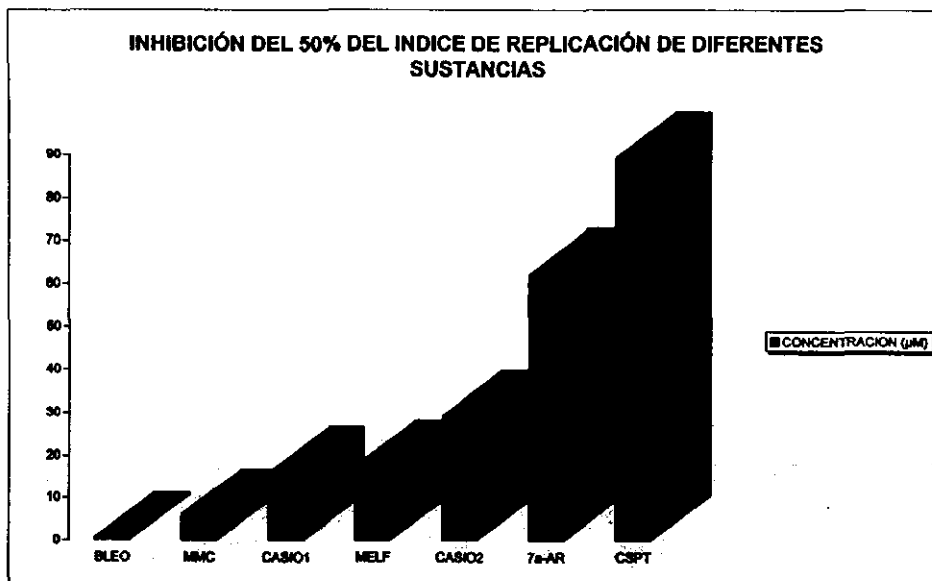
Gráfica No.51 Índice de Replicación, Regresión Lineal



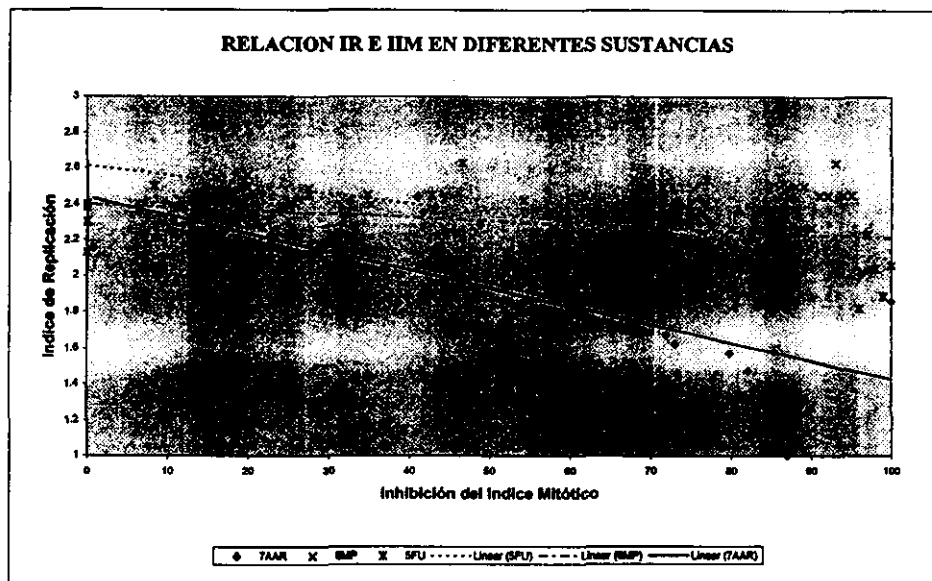
Gráfica No.52 Inhibición del Índice de Replicación



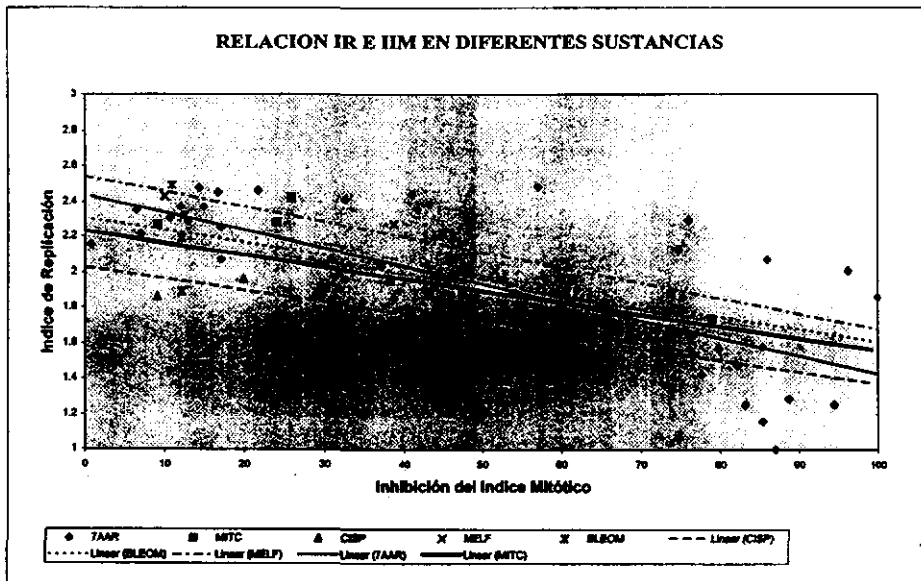
Gráfica No.53 Inhibición del 50% del Índice de Replicación por diferentes sustancias



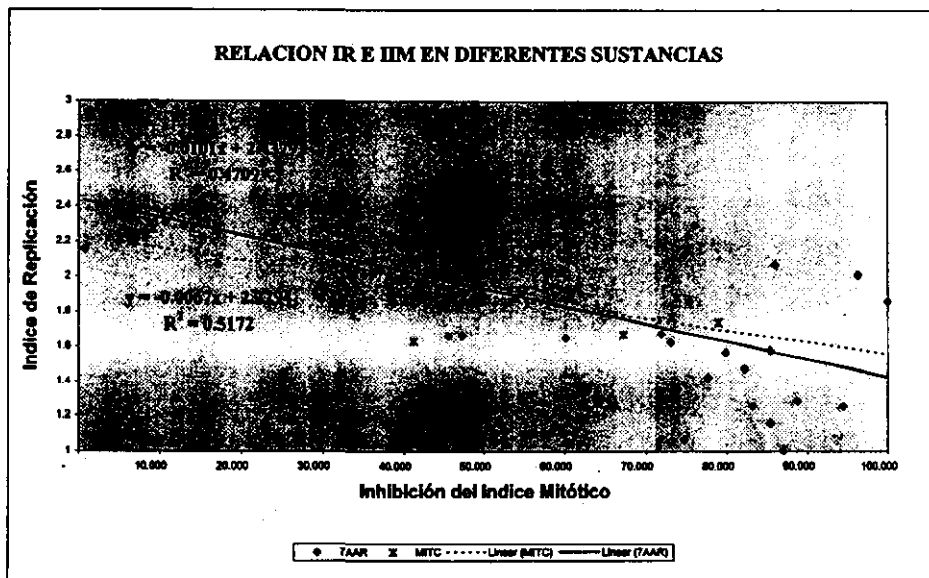
Gráfica No.54 Relación de IR IIM en diferentes sustancias



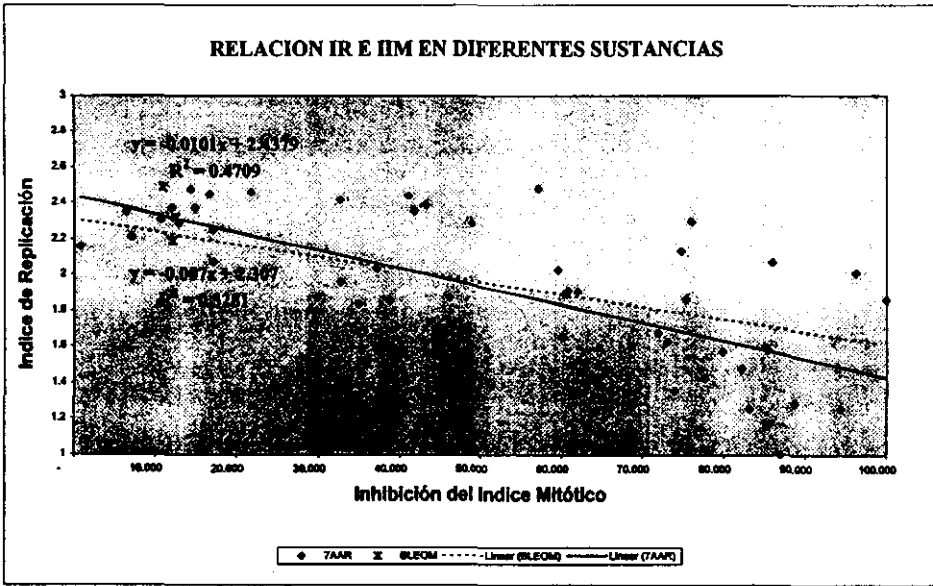
Gráfica No.55 Relación de IR IIM en diferentes sustancias



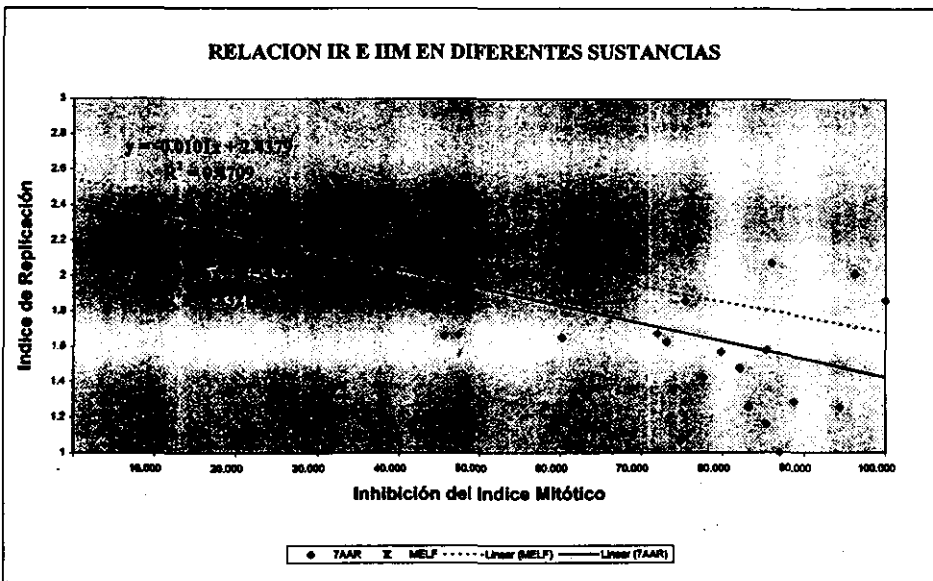
Gráfica No.56 Relación de IR IIM en diferentes sustancias



Gráfica No.57 Relación de IR IIM en diferentes sustancias



Gráfica No.58 Relación de IR IIM en diferentes sustancias



Gráfica No.59 Evaluación del Índice Mitótico. Donador DBL (10-02-97)

