

ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE *Colubrina macrocarpa* (Cav.) Don. RHAMNACEAE PROPAGADA *IN VITRO*

Jovita Popoca^{1,2}, Juan L. García³, Rafael Fernández Nava⁴ Mario Ramírez⁵ y Ma. Luisa Villarreal⁵ ¹Centro de Investigación Biomédica del Sur, IMSS, Argentina No 1, Xochitepec, Morelos, ²Jardín Etnobotánico. INAH, Matamoros 200, Col. Acapantzingo, Cuernavaca, Mor. ³Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, ⁴Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN, ⁵Centro de Investigación en Biotecnología, UAEM. popocasilva@prodigy.net.mx, luisav@cib.uaem.mx

Palabras clave: Colubrina macrocarpa, citotoxicidad, brotes

Introducción. La especie *Colubrina macrocarpa* endémica de México (árnica de raíz roja), ha sido utilizada en la medicina tradicional para tratar cáncer y úlceras gástricas. Se demostró actividad citotóxica en material silvestre de *C. macrocarpa*, como un indicador de sus posibilidades en la terapia del cáncer (1). Particularmente la raíz de esta planta se utiliza abundantemente con propósitos medicinales, lo que ha propiciado una disminución importante de sus poblaciones. En una comunicación previa, reportamos el empleo de procedimientos *in vitro* para la micropropagación de *C. macrocarpa* (2). El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar la actividad citotóxica de extractos de callos y diferentes partes (hojas, tallos y raíces) de plantas en varias etapas de desarrollo que fueron producidas *in vitro*.

Metodología. Como material vegetal para elaborar los extractos evaluados en los bioensayos de citotoxicidad, se utilizaron callos y brotes, así como raíces hojas y tallos de plantas obtenidas *in vitro*. En las pruebas de citotoxicidad se utilizaron cuatro cultivos celulares provenientes de cánceres humanos: carcinoma nasofaríngeo (KB), carcinoma de colon (HCT-15 COLADCAR), cáncer cervicouterino (UISO-SC1) y carcinoma de ovario (OVCAR). Los cultivos fueron mantenidos en medio RPMI adicionado con 10% de suero fetal bovino a 37°C en una atmósfera de 5%CO₂ en aire (100% de humedad). Las células en fase de crecimiento logarítmico fueron tratadas por triplicado adicionando diferentes concentraciones (1,10 y 100 µg/ml) de los extractos metanólicos, obtenidos por maceración del material vegetal. Los cultivos se incubaron por 72 hrs en las condiciones ya descritas. La concentración celular se determinó por análisis de proteínas utilizando el método de Oyama. Los resultados se expresaron como las dosis de los extractos analizados, que inhibieron el 50% del crecimiento celular (DE₅₀) respecto al control. Los valores fueron estimados por interpolación en una curva semilogarítmica de la concentración de extractos evaluados (µg/ml) vs el porcentaje de células viables, utilizando criterios internacionales que aceptan como positivos valores de DE₅₀ ≤ a 20 µg/ml

Resultados y Discusión. En la tabla 1 se muestran los resultados del material propagado *in vitro* de *C. macrocarpa* con actividad citotóxica. Se observa que hojas, tallos y raíces de plantas micropropagadas presentaron citotoxicidad en al

menos una de las líneas celulares estudiadas, y la raíz fue el órgano que presentó la actividad más importante con valores de DE₅₀ = 1.7µg/ml en la línea KB y 10.9 µg/ml en la línea OVCAR. Los valores de citotoxicidad obtenidos del material propagado *in vitro* son comparables con los obtenidos utilizando material silvestre

Así también los extractos obtenidos de callos que fueron crecidos en tres tratamientos hormonales, fueron citotóxicos en alguna de las líneas celulares analizadas.

La línea celular de cáncer de ovario (OVCAR) fue la más sensible a los extractos ensayados en las pruebas de citotoxicidad.

Tabla 1. Actividad citotóxica del material vegetal de *C. macrocarpa* obtenido *in vitro*

Material Vegetal	Dosis Efectiva al 50 % (µ/ml)			
	KB	HCT-15	UISO	OVCAR
Hoja ^a	>100	20.9	75.9	17.4
Hoja/Tallo ^a	>100	36.3	>100	9.1
Raíz ^a	1.7	25.1	57.5	10.9
Callos T1	63.0	3.3	>100	63.0
Callos T2	10.0	>100	>100	>100
Callos T3	36.3	83.1	>100	>15.8

^a =Obtenido por micropropagación. T1 = callos crecidos en medio MS adicionado con AIA + CN, T2 = callos crecidos en medio MS adicionado con ANA (60°), T3 = callos crecidos en MS adicionados con ANA.

Conclusiones. -Los extractos de órganos de plantas de *C. macrocarpa* (raíces, tallos y hojas), obtenidas por micropropagación, así como callos de esta especie crecidos en tres tratamientos hormonales, mostraron valores importantes de citotoxicidad, siendo la raíz la parte más activa del vegetal.

Bibliografía.

- 1) Popoca J., Aguilar A., Alonso D., Villarreal ML.(1998). Cytotoxic activity of selected plants used as antitumorals in Mexican traditional medicine. J. Ethnopharmacol.59:173-177.
- 2) Popoca J., Villarreal ML., García J. (1999) Propagación clonal de *Colubrina macrocarpa* (Cav.)Don. Rhamnaceae, árnica de raíz roja de uso etnomédico. En Memorias: VIII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Huatulco Oaxaca septiembre p564