

## Actividad antitumoral de compuestos naturales: Lectinas y azafrán

Fikrat I. Abdullaev<sup>1,2</sup> y Elvira González de Mejía<sup>1</sup>

**RESUMEN.** El problema principal en el uso de agentes quimioprotectores en tratamiento de cáncer es la toxicidad potencial de estos medicamentos a células normales. Una manera de resolver este problema es el empleo de inhibidores de tumorigénesis que sean de origen natural. Recientemente se ha tenido mucho interés en buscar, entre varios extractos naturales de plantas, aquellos que posean actividades antitumorales y anticarcinogénicas, así como también en compuestos naturales presentes en productos alimenticios. Los extractos naturales o sus compuestos purificados han sido de interés en el estudio de algunos aspectos referentes al cáncer. El descubrimiento acerca de que las lectinas de plantas presentan actividad biológica sobre células transformadas, especialmente en relación con un efecto antitumoral, ha aumentado el interés en este campo. Otra especie natural con efecto antitumoral es el azafrán. En la presente revisión se comentan algunas investigaciones acerca de los efectos antitumorogénicos y anticarcinogénicos de las lectinas y el azafrán, así como de alguno de sus componentes. Asimismo se discute también el posible mecanismo por el cual las lectinas y el azafrán pueden actuar como antitumorogénicos.

**SUMMARY.** Antitumor activity of natural substances: lectins and saffron. A major problem in the use of chemopreventing agents in cancer treatment is the potential toxicity of these drugs to normal cells. One approach to solve this problem is to employ the inhibitors of tumorigenesis which have a natural origin.

Within the past few years, natural extracts or purified compounds have become a well-established means for studying varied aspects of cancer. The recent development in plant lectins research is characterized by increasing interest in the biological activities of these lectins, specially in their antitumor effect. Another natural spice -saffron- also become the focus of recent interest as antitumor agent. This review will briefly summarize research on the study of antitumor and anticarcinogenic effects of plant lectins and saffron extract or their constituents. These findings are interpreted and the possible mechanism of antitumor effects of plant lectins and saffron are discussed.

### INTRODUCCION

Recientemente en el campo de la quimioterapia contra el cáncer, el interés científico se ha dirigido a la actividad biológica de diferentes agentes naturales, la cual se ha demostrado experimentalmente *in vivo* e *in vitro* en animales y epidemiológicamente en poblaciones. De hecho, se han identificado más de 800 agentes potencialmente preventivos, de los cuales algunos podrían ser utilizados en el futuro como drogas antitumorogénicas (1-3). Los mecanismos de acción de muchos de estos inhibidores de tumorigénesis no se comprenden bien, lo cual provoca dificultades para organizarlos en un esquema preciso. Una forma posible de proveer un esquema de organización, es clasificar a los inhibidores de acuerdo con su origen. Utilizando este criterio, los inhibidores de tumorigénesis pueden ser divididos en tres grupos: extractos de productos naturales, componentes naturales purificados y componentes de origen sintético. Un problema principal en el uso de agentes quimioprotectores en el tratamiento de cáncer es su toxicidad potencial a células normales. Una manera de resolver este problema es el empleo de inhibidores de tumorigénesis de origen natural. Actualmente se ha incrementado el interés en buscar extractos y compuestos naturales purificados, provenientes de productos alimenticios que tengan actividad antitumorogénica y antitumoral. En nuestro laboratorio hemos estudiado el efecto de inhibidores potenciales de tumorigénesis, pertenecientes a los dos

primeros grupos mencionados. Entre estos se encuentran los extractos de alimentos como el frijol y de especias como el azafrán en la manera que son comúnmente usados y a sus componentes naturales purificados (del frijol - lectina, del azafrán-crocetina, dimetil crocetina, crocina, safranal, dimetilcrocetina, picrocrocina y (β-caroteno). Es ampliamente conocido el hecho de que las leguminosas, entre otros alimentos, son una importante fuente de nutrientes, especialmente en los países del Norte y Sur América. Por ejemplo en México, las leguminosas como el frijol, son ampliamente consumidas y son fuentes ricas en varios nutrimento; a pesar de que además también contienen factores antinutricios como las lectinas (4).

Por más de 100 años las investigaciones sobre las lectinas se han enfocado a las de origen vegetal, en muchos casos de leguminosas. Estas proteínas no enzimáticas, que se unen a carbohidratos, que aglutinan células y/o precipitan glucoconjugados, han sido herramientas invaluable en las investigaciones biológicas y médicas (5-7). Por otro lado, los filamentos de la flor de azafrán (*Crocus sativus* L.) al ser secados, adquieren una coloración rojo oscuro; los estigmas de la flor son ampliamente usados como especias para condimentar y colorear los alimentos durante su preparación y también se usan en perfumería. El azafrán ha sido usado con propósitos médicos por más de 2000 años; posee propiedades antisépticas, fungicidas, antitrombóticas, anticancerígenas y se emplea en el tratamiento de enfermedades del corazón, de la sangre, de la vista y contra la parálisis muscular. Recientemente se ha reportado que los extractos de azafrán contienen, ambos, un inductor y un inhibidor de la agregación de las plaquetas (8,9). Los principales componentes del azafrán son los carotenoides. El efecto antitumorogénico de los carotenoides ha sido demostrado en varias investigaciones y experimentos epidemiológicos. En particular, se observó que la crocetina posee un efecto inhibidor en células tumorogénicas (10,11).

1. Departamento Investigación y Postgrado en Alimentos, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, México  
2. Laboratorio de Bioquímica Genoma, Instituto de Botánica, Academia de Ciencias de Azerbaijan, Baku 370073, Azerbaijan

El principal objetivo de este artículo es acentuar la importancia de la actividad antitumorogénica y anticarcinogénica de agentes naturales, con esta finalidad se revisaron estudios con dos sustancias como lectinas de plantas y azafrán.

**Efecto antitumorogénico y anticarcinogénico de lectinas.** En los últimos años, las lectinas han llegado a ser herramientas bien establecidas para la comprensión de diversos aspectos del cáncer y la metástasis. Han surgido nuevas evidencias con respecto a que las lectinas contribuyen en forma dinámica al reconocimiento de células tumorogénicas (marcadores de superficie), en la adhesión de células como señales transductoras de localización entre la membrana, en la estimulación mitogénica, en el aumento de las defensas inmunológicas, en la citotoxicidad y en la apoptosis. En varios estudios se ha demostrado el patrón de enlace de las lectinas tanto a células malignas como a células normales y se espera que los receptores de las lectinas puedan ser marcadores discriminantes para células neoplásicas (12-15). Sin embargo, no existe la seguridad de un sistema individual, en el cual el enlace de la lectina pueda ser usado confiablemente para la detección de malignidad. Se sabe que las células malignas son frecuentemente mucho más sensibles a los efectos citotóxicos de las lectinas que las células normales (15). Algunos datos que existen en la literatura acerca del efecto antitumorogénico y anticarcinogénico de las lectinas *in vivo* e *in vitro* directamente sobre células malignas, están descritas en la Tabla 1.

**A Estudios *in vivo*:** Los primeros informes que demostraron el efecto antitumoral de lectinas de plantas fueron publicados en 1970 (16,17). Se demostró que la abrina y la ricina, proteínas altamente tóxicas (DL50 = 0.02-0.012 mg/kg peso corporal en ratón), aisladas de *Abrus precatorius* y *Ricinus communis* respectivamente, tienen efecto inhibitorio sobre el crecimiento de tumores en ascites Ehrlich *in vivo* (16). El efecto inhibitorio de la abrina y la ricina, tanto solas como en combinación con otros agentes antitumorales, en células animales y humanas fue informado posteriormente (18-21). El mecanismo para la actividad citotóxica de estas lectinas de plantas fue investigado y se sugirió que la diferencia en la estructura de la superficie de membranas entre las células normales y las transformadas puede ser reflejada mediante un efecto tóxico diferencial de estas proteínas sobre dichas células (22,23). En el laboratorio de I.J. Goldstein y colaboradores se demostró que la lectina GS-1 inhibió el crecimiento de tumores en ratón y que el efecto citotóxico de la lectina vegetal (lectina GS-1) hacia las células tumorogénicas EAC dependía de la interacción específica de la lectina GS-1 con la superficie celular que contenía grupos  $\alpha$ -D-galactósidos (24-29). También se demostró que las lectinas de cuatro plantas como son el trigo (WGA), la soya (SBA), el frijol (PHA) y la planta *Phytolacca americana* (PWM) tenían actividad antitumoral en linfomas ascíticos de ratón. Las cuatro lectinas fueron capaces de inhibir el crecimiento de tumores y de aumentar la expectativa de vida del huésped (14). Recientemente, se demostró con ratones alimentados con una dieta que contenía la lectina PHA y que habían sido infectados intraperitonealmente con células de EAC o Krebs II, que desarrollaron ascitis más lentamente que los ratones a los cuales se les alimentó con la dieta control. Se demostró que el número total de tumores, la síntesis de proteínas, de ácidos nucleicos y el contenido de poliaminas, disminuyó en comparación con el control cuando la lectina fue incluida en la dieta de los animales portadores de células cancerígenas (30-32).

En otro estudio de este laboratorio, se observó que la inclusión de WGA y otras lectinas específicas para GlcNAc en la dieta, disminuyeron significativamente el crecimiento de ratas en comparación con los controles, sugiriendo el uso del gen WGA en cultivos de plantas transgénicas (33). Actualmente es bien sabido que las lectinas de plantas pueden interactuar con diferentes células tumorales. La fuerte aglutinación de células tumorales Ehrlich por RCA y PHA y la débil aglutinación por WGA, PSL, SBA, LCA, FBL, STA y el efecto inhibitorio de varias lectinas de plantas contra células de sarcoma Yoshida o PHA contra células tumorales Ehrlich también ha sido demostrado (34-36).

TABLA 1  
Efecto antitumorogénico de lectinas<sup>1</sup> vegetales *in vivo* e *in vitro*.

Componentes	Especie	Tumor <sup>2</sup>	Carcinógeno <sup>3</sup>	Referencia
Con A	Hamster	3T3 polyoma 3T3 SV-40	DMNA	17
PHA	Ratón	Krebs II ascites	-	31
PHA	Ratón	EAC	-	26
PHA	Humano	HeLa	-	38
GS I	Ratón	EAC	-	24-28
GS I	Ratón	TA3-ST	-	-
	Humano	LSI174t y SW1116	-	24
RCA	Ratón	EAC	-	29
				36
Ricina/ Abrina	Ratón	EAC YC L1210	- - -	17-23
ML	Ratón	B hidridomas,	-	37
	Humano	P815, EL-4, Ke37, MOLT-4, U937 WGA, PHA	- -	37,38
PWM, SBA	Ratón	linfoma ascítico	-	14
PNA, ABL	Humano	HT29, Caco2, MCF-7, Rama 27	-	39
GSI, WGA	Ratón	BL6-8, CL8-1, YAC-1	-	37

**1 Lectinas:** ABL - lectina de *Araricus bisporus*; Con A (concaivalina A) - aglutinina de *Canavalia ensiformis*;

FBL - lectina de haba (favina); GS I - lectina de *Griffonia simplicifolia*; LCA - aglutinina de *Lens culinaris*

ML - lectina de misletoe; PNA - lectina de cacahuete de *Arachis hypogaea*;

PHA - aglutinina de *Phaseolus vulgaris*;

PSL - lectina de *Pisum sativum* (chícharo); PWM - *Phytolacca americana*, poke weed mitogen; RCA - aglutinina de *Ricinus communis*; SBA - aglutinina de *Glycine max*, aglutinina de frijol de soya; STA - aglutinina de *Solanum tuberosum* (papa); WGA - aglutinina de germen de trigo (*Triticum vulgare*)

**2 Tumor:** B hydromas - células humanas de linfoblastos híbridos tipo B; Caco2 - células humanas de adenocarcinoma de colon; CL8-1 - células de melanoma de ratón; EAC - células de ratón de carcinoma ascítico de Erlinch; EL-4 - células de linfoma de ratón; Hela - células humanas de carcinoma epitelial cérvico; HT-29 - células humanas de adenocarcinoma de colon; Krebs II - células de linfosarcoma ascítico de ratón; LSI174t - células humanas de adenocarcinoma de colon; L 1210 - células de ratón de leucemia linfocítica; MCF-7 - células de humano de adenocarcinoma de pecho (efusión prural); MOLT-4 - células humanas de sangre periférica de leucemia linfoblástica aguda; P815 - células de mastocitoma de ratón; Rama-27 - células fibroblásticas mamarias de rata; SW III6 - células humanas de adenocarcinoma de colon; TA3-ST (Estocolmo) - células de adenocarcinoma mamario de murina; 3T3 polioma y 3T3-SV-40 - células fibroblásticas de embriones de ratón; U 937 - células humanas de linfoma histiocítico; YAC-I - células de linfoma de ratón; YC - células de sarcoma Yoshida

**3 Carcinógeno:** DMNA - Dimetilnitrosamida

**B Estudios *in vitro*:** La concanavalina A, aislada de *Conavalia ensiformis*, inhibió el crecimiento de diferentes tipos de células transformadas de embrión de hamster oro *in vitro* e inhibió el desarrollo de tumores en células transformadas de polyoma en hamster pero no tuvo efecto sobre células normales (17). El efecto citotóxico de lectinas de heno (*Viscum album*) sobre seis líneas celulares de cáncer de mama humano *in vitro* empleando el ensayo Mossman ha sido mostrado por Schumacher y sus colegas. Estos autores han indicado que existen diferencias cuantitativas en el efecto de lectinas sobre diferentes líneas celulares y los modelos de enlazamiento fueron también diferentes (37). Jansen y colaboradores han demostrado que los extractos de heno y lectinas purificadas inhibieron *in vitro* el crecimiento de diferentes células malignas (38). Las lectinas de hongos (ABL) tuvieron efecto citotóxico *in vitro* en células epiteliales. Esta lectina a dosis de 25 µg/ml inhibió la incorporación de timidina-<sup>3</sup>H en ADN de células HT-29 en 87%, células Caco-2 en 16 %, células MCF-7 en 50 % y células Rama-27 en 55%. La inhibición de la proliferación en estas células causado por ABL fue reversible después de eliminar la lectina (39). En nuestro laboratorio hemos examinado el efecto del extracto crudo de frijol y de la lectina purificada PHA, sobre la formación de colonias de células HeLa. Estos agentes inhibieron el desarrollo de células cancerígenas (40). Esta investigación se encuentra actualmente en desarrollo.

#### Efecto antitumorogénico y anticarcinogénico del azafrán.

Existen diversos estudios en la literatura científica en los cuales se ha examinado el efecto quimioprotector de extractos de azafrán así como de sus constituyentes (10, 41-49). Esta información se encuentra brevemente resumida en la Tabla 2.

TABLA 2  
Efecto antitumorogénico de azafrán *in vivo* e *in vitro*

Componentes	Especie	Tumor <sup>2</sup>	Carcinógeno <sup>3</sup>	Referencia
Azafrán <sup>1</sup>	Ratón	S-180, EAC, DL	-	41-43
Azafrán	Ratón	S-180, DLA, P388	DMBA, MCA	46,47
			cisplatin, ciclofosfamida	
Azafrán	Ratón	DLA, EAC, S-180, P	-	40-43
Azafrán	Humano	HeLa, A-549, VA-13,	-	10,46-49
		HL-60, osteosarcoma	-	
		sarcoma de ovario,	-	
		fibrosarcoma	-	41-43,45
Crocetina	Humano	HL-60, K562, A549,	-	
		VA-13, HeLa	-	10,11,52, 61,
Dimetil-	Humano	HL-60, K562	-	10,49,55-57
crocetina	Humano	HL-60, K562, HeLa	-	52,55-57,61
Crocina	Humano	HeLa	-	58
Picrocrocina	Humano	HeLa	-	58
β-caroteno	Humano	HL-60, K562	-	52,55-57
Safranal	Humano	HeLa	-	61

1 Azafrán: extracto alcohólico de la flor de azafrán (*Crocus sativus* L.)

2 Tumor: A 549 - células humanas de adenocarcinoma de pulmón; BL6-8 - células de melanoma de ratón; DLA - células de linfoma ascítico de Dalton; EAC - células de ratón de carcinoma ascítico de Ertlich; HeLa - células humanas de carcinoma epitelial cérvico; HL-60 - células humanas de leucemia promielocítica aguda; K-562 - células humanas de leucemia mielocítica crónica; P 388 - células neoplásicas linfoides de ratón; S 180 - células del sarcoma 180 de ratón; VA-13 - SV 40 - células humanas transformadas de fibroblastos pulmonar fetal (W138); W1-38 - células humanas de fibroblastos pulmonar fetal

3 Carcinógeno: DMBA - Dimetilbenz[*a*]antraceno; MCA - 20-metilcolantreno

**A Estudios *in vivo*:** En 1991, Nair et. al., informaron por primera vez el efecto antitumorogénico del extracto de azafrán. En este estudio se demostró que la administración oral del extracto de azafrán inducía inhibición en el crecimiento de células S-180, EAC y DLA tumorogénicas en ratones, y que esta inhibición era dependiente de la dosis administrada (41). El tratamiento con extractos de azafrán (dosis de 200 mg/Kg de peso corporal) a ratones portadores de tumores carcinogénicos, aumentó significativamente (2-3 veces) la sobrevivencia en comparación con ratones no tratados, también portadores de tumores carcinogénicos. Los resultados de estudios bioquímicos y hematológicos sugirieron que la administración del extracto de azafrán no tiene efectos tóxicos. La DL50 (dosis requerida para matar al 50% de la población en estudio) fue de 600 mg/Kg de peso corporal para el extracto de azafrán (42). Estos mismos autores posteriormente demostraron que el extracto de azafrán encapsulado liposómicamente aumentaba su actividad antitumorogénica en ratones con tumores sólidos S-180 y EAC. La administración intraperitoneal de 50 mg/Kg de peso corporal de azafrán inhibió en un 70% el crecimiento de tumores sólidos S-180 transplantados; una dosis más baja (25 mg/kg) no demostró respuesta antitumorogénica significativa. También se observó que los tumores sólidos EAC respondieron menos al azafrán encapsulado en comparación con los tumores S-180. Se demostró además que la administración intraperitoneal de azafrán en dosis de 75 y 100 mg/kg restringió el crecimiento de los tumores en un 32 y 55%, respectivamente (43-45). Sin embargo, en la literatura científica existen pocos informes en donde se haya probado el efecto del extracto de azafrán en la carcinogénesis. En un estudio se demostró que el extracto de azafrán tuvo un efecto inhibitorio en cáncer de piel, cuando se administró en ratones inducidos con DMBA, así como también se detuvo el crecimiento de sarcomas en tejido dérmico inducido por MCA (46,47). La aplicación local de extractos de azafrán en una dosis de 100 mg/kg de peso corporal retardó el ataque de papilomas en los animales. Por otro lado, cuando se administró oralmente el extracto de azafrán después de 30 días de la aplicación subcutánea de MCA, se observó un decrecimiento del 90 % en la incidencia tumorogénica comparando a los animales control, los cuales fueron tratados con MCA sin la administración del extracto de azafrán. En un estudio posterior, se demostró que el tratamiento con extractos de azafrán aumentó dos veces el tiempo de vida de los ratones con tratamiento de cisplatin. Además se pudo observar que este extracto previene parcialmente la pérdida del peso corporal, de niveles de hemoglobina y de leucocitos causados por cisplatin (46). Por otro lado, se sabe que el extracto de azafrán incrementó el lapso de vida de los ratones tratados con dosis letales crónicas de ciclofosfamida con o sin tumores S-180 (47).

**B Estudios *in vitro*:** Es interesante observar que la mayoría de los estudios han mostrado que hay un efecto citotóxico del extracto de azafrán sobre células tumorogénicas *in vitro*. Por medio de la exclusión con azul de tripano se ha demostrado que el extracto de azafrán tiene un efecto citotóxico en células tumorales de humanos. El 50% de la citotoxicidad en células tumorales de osteosarcomas, fibrosarcoma y sarcoma de ovario se obtiene con concentraciones de 14, 6.8 y 7.2 mg/ml de extracto de azafrán respectivamente (48). En otro estudio se determinó que el 50% de la citotoxicidad de células tumorales S-180, P 388 leucemia, EAC y DLA se alcanza con 28, 30, 17 y 9 mg/ml del extracto de

azafrán, respectivamente. Sin embargo, se ha observado que niveles mayores del extracto de azafrán no tiene efecto sobre las células normales de bazo de ratones. (41-43). En nuestro laboratorio se ha examinado la capacidad del extracto de azafrán para formar colonias en diversos tipos de células normales y tumorales de humanos. En este experimento se estudiaron células de adenocarcinoma de pulmón (A549) y de carcinoma de epitelio cervical (Hela) y fibroblastos de pulmón normales. Los tratamientos previos con extractos de azafrán de estas células mostraron un decremento, dependiente de la dosis, en la formación de colonias de células tumorales y no se observó ninguna inhibición en las células normales (48,49). Al comparar la sensibilidad de las líneas celulares malignas y no malignas (A549, WI38 y VA-13), se encontró que las células malignas fueron más sensibles que las células normales al efecto inhibitorio del azafrán en la síntesis de ADN y de ARN y no se alteró la síntesis de proteínas. Los resultados indican que este efecto no depende del origen de las células tumorales o normales *in vitro*. En contraste con la síntesis de los ácidos nucleicos, la síntesis de proteínas no fue inhibida en ningún grado por el extracto de azafrán ni en células normales ni en células malignas (48,49). Así, la inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos por el azafrán ha sido la observación más consistente acerca de su posible modo de acción. Recientemente ha sido demostrado que los carotenoides del azafrán, los cuales son una mezcla de crocina o derivados puros (crocetina y dimetilcrocetina), son inhibidores altamente efectivos de la proliferación y de la inducción en la diferenciación de células leucémicas HL-60 (50). En nuestro laboratorio se demostró que la crocetina causó inhibición en la síntesis de proteínas y de ácidos nucleicos en células malignas. La crocetina tuvo también un efecto inhibitorio dosis-dependiente, sobre la síntesis de ADN y ARN en núcleos aislados y suprimió la actividad de la polimerasa II de ARN purificado (11). Curiosamente, no tuvo efecto significativo sobre células normales de bazo de ratones, a pesar de la alta concentración del extracto (41). Otros estudios se han enfocado a investigar los efectos del azafrán sobre varias propiedades bioquímicas y procesos de cultivo de células. La exposición de los tumores celulares a los extractos de azafrán mostró una inhibición en la síntesis de ácidos nucleicos en la células (48,49). El azafrán se sabe también que estimula y ayuda en la proliferación no específica de linfocitos maduros e inmaduros *in vitro* (43). La elevación en los niveles intracelulares de glutatión reducido y de las enzimas relacionadas con el glutatión, inducidas por el azafrán, sugieren una actividad antioxidante del azafrán comparable con la del  $\beta$ -caroteno (45). En un estudio reciente (40) se examinaron las posibles interacciones entre el azafrán y el selenito, compuesto del cual se sabe tiene actividad anticarcinogénica. Los tumores celulares tratados con azafrán junto con selenito presentaron una mayor inhibición en la formación de colonias y en la síntesis de ácidos nucleicos en comparación con el efecto de estos agentes por separado. El tratamiento de tumores celulares con azafrán resultó incrementar el nivel de compuestos sulfhidrilo a nivel intracelular (40,45). La presencia de compuestos sulfhidrilos correlacionó con la potencia del selenito en la célula (40) lo cual pudo explicar la potenciación de la citotoxicidad del selenito por el azafrán. Otras contribuciones a este estudio se han realizado en diversas investigaciones acerca de los efectos del azafrán y de algunos de sus componentes *in vitro*. Al respecto se ha demostrado que el efecto del antioxidante conocido como ácido-2-carboxílico-3,8-dihidroxi-metil

antraquinona presente en el azafrán y que tiene actividad mas alta que la vitamina E, es capaz de inhibir la oxidación del ácido linoleico. Se han descrito (55, 56) los efectos de los carotenoides naturales y de sus derivados en células tumorales K562 y se ha indicado que la incubación con estos compuestos causó una inhibición significativa en el crecimiento y diferenciación celular. Tarantilis et al., (10,52) realizaron investigación acerca de la potencia de una gran variedad de carotenoides naturales y semisintéticos, en relación a los efectos del ácido retinoico y observaron que estos compuestos tuvieron una alta efectividad para inhibir la proliferación de células de leucemias HL-60 así como también en la inducción de la diferenciación. Escribano et al. (61) comparó los efectos inhibitorios del extracto de azafrán con los de la crocina, crocetina, picrocrocina y safranal. Lo cual condujo a la conclusión de que el crecimiento en la actividad inhibitoria de los extractos de azafrán es principalmente debida a la crocina. También encontraron que la crocina tiene muy poca citotoxicidad. Estos resultados sugieren que los azúcares pueden jugar un papel muy importante en el efecto citotóxico de la crocina, ya que la crocina es un derivado no glucosilado. Sin embargo, la crocetina presenta efectos de inhibición celular de ácidos nucleicos y en la síntesis de proteínas (9), lo cual sugiere también que puede tener un papel en la citotoxicidad del azafrán. Escribano et al. (61) demostró en estudios de cinéticas que el safranal tiene un efecto más rápido que la picrocrocina y que la crocina. Lo cual se puede ver reflejado por una mejor difusión del safranal a través de la membrana celular, debido a que posee naturaleza apolar y bajo peso molecular. También estos mismos autores describieron cambios morfológicos provocados por la crocina, entre los cuales se pudieron observar áreas vacuoladas, reducción de tamaño y condensación de núcleos. Estos cambios morfológicos pueden verse reflejados en alteraciones metabólicas, lo cual ya ha sido previamente reportado a nivel molecular con células tratadas con extractos de azafrán. (48,49)

**Posibles mecanismos de acción de estos agentes:** En la actualidad en forma general se acepta que el cáncer se puede prevenir por una gran variedad de compuestos sintéticos y naturales. Además existe mucha información al respecto de datos epidemiológicos y experimentales, realizados con el fin de esclarecer el mecanismo de acción de la mayoría de estos compuestos como agentes quimioprotectores, sin embargo, aún se entiende poco. Los extractos naturales son muy complejos químicamente y esto en cierta medida hace muy difícil la determinación del mecanismo exacto de acción que tienen en lo referente a su actividad antitumoral.

Así pues, no es sorprendente que a pesar de toda la evidencia acerca de los compuestos naturales y su efecto inhibitorio en tumorigénesis experimental y carcinogénesis química, el mecanismo de acción por el cual realiza este efecto no sea del todo claro. Diversos mecanismos han sugerido que las lectinas de plantas poseen efectos antitumorogénicos y anticarcinogénicos. Como ya se mencionó con anterioridad, las lectinas son proteínas no enzimáticas que pueden unirse a monosacáridos y oligosacáridos en forma reversible, las cuales además poseen una alta especificidad la cual es determinante por la forma del sitio de enlace y la naturaleza de los residuos de aminoácidos a los cuales el carbohidrato se encuentra unido. Pequeños cambios en la estructura de los sitios de enlace, debida a la sustitución de uno o dos aminoácidos, puede reflejar un cambio marcado en la especificidad de las lectinas. Los carbohidratos se unen a la proteína a través de un enlace de hidrógeno, así como también por

fuerzas de van der Waals y de interacciones hidrofóbicas. En células cancerosas se han observado gran variedad de cambios y alteraciones en la estructura del carbohidrato. La mayoría se han encontrado en tejido normales en la secuencia normal del carbohidrato y su expresión en células cancerosas se ve reflejada en un cambio en la etapa de diferenciación a células transformadas. La expresión de complejos tipo N-oligosacárido con ramificaciones y dialquilados en células de tumores malignos parece que se encuentra relacionada directamente con el potencial metastásico. Las diferencias en la estructura de las membranas superficiales entre células normales y transformadas puede reflejarse por un efecto tóxico diferencial de las lectinas sobre células normales y transformadas *in vitro*. Estas observaciones sugieren que la inhibición de la formación del enlace N-oligosacárido puede ser una explicación del efecto citotóxico de las lectinas contra el cáncer (5,6,14,15). Otra explicación para el efecto citotóxico de las lectinas respecto a esta observación (50, 51) es que la incubación del tumor celular con las lectinas causa una fragmentación genómica en el ADN en bandas oligonucleosomales y el mecanismo de detención del crecimiento causado por la lectina puede ser debido a la inducción de células muertas programadas (apoptosis). Se ha demostrado que la incubación de tumores celulares con lectinas inhibe la incorporación de timidina -H3 en el ADN y sugiere que la inhibición reversible de la proliferación de tumores celulares por las lectinas puede ser a través de efectos en la síntesis de ADN (39). Se deberá estudiar e identificar la estructura y la actividad de los compuestos en el extracto de plantas y definir su modo de acción, para lo cual se están llevando a cabo trabajos en diferentes laboratorios. Por todo lo que se ha logrado, se puede decir que existe evidencia convincente de la actividad biológica de las lectinas de plantas para involucrar a estas proteínas como herramienta en el tratamiento de cáncer.

Uno de los mecanismos generales que han sido propuestos para la prevención de tumorigénesis es que el azafrán puede ejercer un efecto citotóxico en las células tumorales y así prevenir su proliferación y aparición de tumores a partir de las células transformadas originalmente. Los estudios mencionados con anterioridad demuestran el hecho de que el extracto de azafrán tiene efecto inhibitorio sobre la proliferación celular. Uno de los estudios más consistentes, observó efectos bioquímicos a nivel celular del extracto de azafrán y su efecto inhibitorio en la síntesis de ADN y ARN (40,48,49). Al comparar esta evidencia con los efectos citotóxicos de muchos agentes, se ha observado que el extracto de azafrán no ejerce un efecto inhibitorio significativo en la síntesis de proteína celular (48,49). De interés particular es el hecho de que el extracto de azafrán inhibe la síntesis de células humanas malignas (independientemente de donde se origina el tumor o se lleva a cabo su transformación a partir de células normales *in vitro*), pero no tienen efecto inhibitorio detectable sobre la síntesis de células humanas no malignas (48,49). Recopilando toda la información descrita, estos hallazgos sugieren la posibilidad de que el efecto inhibitorio del azafrán sobre la síntesis de ácidos nucleicos puede representar una base bioquímica para la inhibición de la proliferación de tumores celulares. La pregunta ahora es determinar si el azafrán tiene un efecto directo en la inhibición de síntesis de ácidos nucleicos o si es el resultado de algún otro efecto primario sobre la célula. Estos supuestos han sido estudiados por medio del análisis de los efectos del azafrán sobre la síntesis de ADN y ARN en un sistema libre de células con núcleos aislados (48). Los resultados indicaron que el extracto de azafrán no tuvo efecto en la síntesis de ADN y ARN en los núcleos aislados, lo cual apoya la conclusión de que el efecto inhibitorio del azafrán sobre la síntesis de

ácidos nucleicos no se debe probablemente a un efecto directo en las reacciones de síntesis. Diversos mecanismos se han propuesto para esclarecer el mecanismo de acción por el cual los carotenoides que constituyen al azafrán ejercen su efecto antitumoral. Nair et al. (43) observó que el efecto antitumoral del extracto de azafrán puede ser demostrado únicamente cuando este es administrado oralmente pero no cuando es inyectado por vía intraperitoneal, llegando a la hipótesis de que es necesario que se metabolicen primero los componentes activos del azafrán para que ejerza su actividad antitumoral. Se ha sugerido en particular que la crocina puede ejercer su efecto antitumoral debido a su conversión a un retinoide. Un segundo mecanismo propuesto para poder conocer el modo de acción de los carotenoides del azafrán en relación a su capacidad antitumoral está basado en la hipótesis ampliamente aceptada de que estos compuestos tienen la función de inhibir las reacciones que generan radicales libres (53,54). La mayoría de los carotenoides son de naturaleza liposoluble y así es que actúan con alta eficiencia como atrapadores de radicales libres a través de la membrana celular (54). Este mecanismo involucra al potencial de atrapamiento de radicales libres de los carotenoides y se ha apoyado en estudios computarizados de las moléculas (59,60). Un tercer mecanismo involucra la interacción de los carotenoides con topoisomerasa tipo II, esta enzima está involucrada en la replicación celular del ADN (56). Esta idea se apoya en que se han encontrado a nivel nuclear algunos carotenoides (57) así como también a su efecto inhibitorio en la síntesis celular de ADN. Un cuarto mecanismo propone que el efecto citotóxico de la crocina es mediado vía apoptosis (62).

## CONCLUSIONES

Hay un gran interés en la evaluación de las funciones biológicas de las lectinas de plantas, en particular su aplicación como instrumento en la detección de cáncer. Se ha observado que el comportamiento de las lectinas de plantas en células normales y malignas son diferentes y también se ha propuesto que las lectinas presentes en la superficie de las células malignas pueden ser un blanco para fines terapéuticos. Existe varios informes en los cuales se concluye que las lectinas de plantas y sus receptores juegan un papel importante en la adhesión de células tumorales y en la metástasis. También hay evidencia de que las lectinas pueden usarse como marcadores de células malignas y como herramientas para el diagnóstico y la terapia de cáncer. En la literatura hemos encontrado pocas publicaciones acerca del estudio del efecto de las lectinas de plantas sobre células tumorales en crecimiento. Se ha sugerido que el tratamiento con anticuerpos de anti-lectinas pueden inhibir el crecimiento de tumores celulares e inhibir la colonización *in vivo*. En otras investigaciones se han usado lectinas como blanco de anticuerpos de anti-lectinas conjugadas con drogas o toxinas para células tumorales o el uso de estas como acarreadores de drogas blanco (5,14,15). Se pueden usar varias lectinas de plantas, marcadas con fluoresceína, con especificidad a determinados carbohidratos para comparar su reactividad con células no adhesivas o células tumorales adhesivas. Existe mucha evidencia que sugiere que las lectinas se encuentran involucradas en la adhesión de células tumorales y su posterior transformación. (15). Las propiedades mitogénicas de las lectinas de plantas y su habilidad para aglutinar preferentemente a células malignas ha dado pie a la búsqueda y al estudio de nuevas lectinas con propiedades no usuales o a reexaminar las lectinas conocidas. Por ejemplo, recientemente se ha publicado que a partir de semillas de frijol aterciopelado, se

aislaron lectinas de tipo Forsmann. Estas semillas de leguminosas primeramente se conocieron como «no hemoaglutinantes» (57). Además, después del descubrimiento de Aub, en el cual las células malignas fueron aglutinadas por las lectinas más efectivamente que las células normales, muchos investigadores creyeron que la diferencia entre las células cancerosas y las células normales estaba en su superficie; sin embargo, no se descarta la posibilidad de que el mecanismo del efecto antitumoral de las lectinas tenga otra explicación. Analizando la literatura y los resultados preliminares puede sugerirse que uno de los posibles mecanismos de acción de las lectinas de plantas como agentes quimioprotectores sea el efecto directo o indirecto para actuar como inhibidores de la síntesis de macromoléculas en las células tumorales. Por todo lo que se ha logrado, se puede decir que existe evidencia convincente de la actividad biológica de las lectinas de plantas para involucrar a estas proteínas como herramienta en el tratamiento de cáncer. Es bien conocido que el cáncer puede prevenirse por medio de la administración de una gran variedad de compuestos sintéticos y naturales. Además de las evidencias experimentales y epidemiológicas, los mecanismos de acción de muchos de los agentes quimioprotectores no están aún claros. Uno de los mecanismos sugeridos acerca de su acción, es la inhibición en la síntesis de proteínas y/o ácidos nucleicos en las células tumorales. Puede notarse que la composición química tan compleja de los extractos de productos naturales dificulta la determinación exacta del mecanismo o de su efecto antitumoral.

La gran variedad de estudios recientes ofrecen evidencia convincente acerca de la actividad biológica del azafrán y de sus constituyentes. Estos hallazgos científicos junto con toda la información que se ha recopilado a través de la evidencia terapéutica del azafrán, en contra de muchas enfermedades, ha sido contundente para proponer al azafrán y/o a sus componentes como agentes útiles en la medicina moderna. Las investigaciones futuras al respecto, deben ser enfocadas indudablemente a la búsqueda de poder aplicarlo como agente medicinal, a través de modelos animales en los cuales se estudien algunas de las enfermedades de humanos. Además se debe de complementar con estudios que puedan contribuir al entendimiento del mecanismo o los mecanismos por los cuales el azafrán ejerce su efecto biológico. Tales estudios indudablemente revelarán las aplicaciones potenciales del azafrán y nuevas actividades biológicas del mismo. Un aspecto importante es el del continuo aumento en las investigaciones acerca de la identificación y caracterización biológica de los componentes activos del azafrán, así como la definición de formas de acción a nivel molecular de los mismos. Dentro de las actividades biológicas del azafrán, la de mayor potencial y aplicabilidad médica es la de su habilidad para inhibir la carcinogénesis. Como ya se mencionó, algunos estudios recientes han demostrado que el extracto de azafrán posee actividad antitumoral contra tumores transplantados y actividad anticarcinogénica cuando la carcinogénesis se ha inducido en forma química, como también cuando se han utilizado para inhibir a tumores celulares in vivo, sobre los cuales se ha ejercido un efecto citotóxico. Además es importante también mencionar que los niveles de azafrán empleados en estos estudios resultaron no tener efecto tóxico. Estos hallazgos han incrementado la posibilidad de que el azafrán en forma natural y/o alguno de sus constituyentes pueda ser utilizados como agentes antitumorales y anticarcinogénicos, ya sea solos o en combinación con alguna otra sustancia sintética con actividad anticancerígena. Se deberá estudiar e identificar la estructura y la actividad de los compuestos en el extracto de azafrán y definir su modo de acción, para lo cual se están llevando a cabo trabajos en diferentes laboratorios. Investigaciones

futuras en relación al mecanismo de acción del extracto de azafrán, así como profundizar a nivel celular y molecular sobre el como se efectúa un efecto sinérgico entre algunos de los componentes del azafrán con otros agentes serán áreas importantes. Con todo esto, establecer luego cuáles son los protocolos más exitosos ya sea en aspectos quimiopreventivos o quimioterapéuticos, tanto en modelos animales y finalmente en enfermedades humanas. Los extractos de plantas naturales parecen ser una importante fuente de agentes antitumorales y algunos de los componentes extraídos de estos nos acercan al descubrimiento de nuevas drogas. Los estudios descritos con anterioridad en relación a las características del azafrán, comprueban que esto puede ser verdad. Se puede vislumbrar que sólo se ha empezado a tocar la superficie de una de las aplicaciones potenciales de lectinas y azafrán en la salud y en las enfermedades humanas.

### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por CONACYT, México.

### REFERENCIAS

1. Unnikrishnan M.C. & Kuttan R. Cytotoxicity of extracts of spice to cultured cells. *Nutr. Res.*; 11; 251-257, 1988
2. Unnikrishnan M.C. & Kuttan R. Tumour reducing and anticarcinogenic activity of selected spices. *Cancer Lett.*; 51; 85-87, 1990
3. Wattenberg L.W. En: *Antimutagenesis and Anticarcinogenesis Mechanism II*. Kukoda, Shankel and Waters (eds), Plenum Publishing Corporation, NY-London, p.155-166, 1990.
4. Wyatt C.J., I. Darada, Valencia M.E. & Navarro E. Colon cancer in rats and diet in the Sonoran desert region of México. *ALAN*, 46, 1, 1996
5. Goldstein I.J., Hughes R.S., Monsigny M., Osawa T. & Sharon N. What should be called a lectin?. *Nature*; 285; 665, 1980.
6. Sharon N. & H. Lis. Lectins-proteins with a sweet tooth: function in cell recognition. *Essays Biochem.*, 30, 59-75, 1995.
7. Sharon N. «Lectin-Carbohydrate Interactions at the Atomic Level» En. *Lectin Blocking: New Strategies for the Prevention and Therapy of Tumor Metastasis and Infectious Diseases* Gustav Fisher, Stuttgart, p.1-108, 1994.
8. Oberdieck, R. Contribution to knowledge and analysis of saffron *Crocus sativus* L. *DTSCH. LEBENS-UND NUTZGUTWISSENSCHAFT*, 87 (8); 246-252, 1991
9. Abdullaev F.I. Biological effects of saffron. *BioFactors*; 4 (2); 83-86, 1993.
10. Tarantilis P.A., Morjani H., Polissiou M. & Manfait M. Inhibition of growth and induction of differentiation of promyelocytic leukemia (HL-60) by carotenoids from *Crocus sativus* L. *Anticancer Res.*; 14; 1913-1918, 1994.
11. Abdullaev F.I. Inhibitory effect of crocetin on intracellular nucleic acid synthesis in malignant cells. *Toxicology Lett.*, 70; 243-251, 1994.
12. Boland C.R., Martin M.A. & Goldstein I.J. Lectin reactivities as intermediate biomarkers in premalignant colorectal epithelium. *J. Cellular Biochem.*, Supplement 16G, 103-109, 1992.
13. Murakami I., Sarker A.B., Hayashi K. & Akagi T. Lectin Binding Patterns in Normal Liver, Chronic Active Hepatitis, Liver Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma. An Immunohistochemical and Immunoelectron Microscopic Study» *Acta Pathologica Japonica*, 42(8);560-572, 1992
14. Ganguly C., Das S. Plant lectins as inhibitors of tumor growth and modulators of host immune response. *Chemotherapy*, 40 (4), 272-278, 1994.
15. Mody R.M., Joshi S., Chaney W. Use of lectins as diagnostic and therapeutic tools for cancer. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*. 33(1), 1-10, 1995.
16. Lin J.Y., Tserng K.Y., Chen C.C., Linm L.T., Tung T.C., Abrin and

- Ricin: Antitumor substances. *Nature*, 227, 292-293, 1970
17. Shoham, J., Inbar M., Sachs L. Differential toxicity on normal and transformed cells in vitro and inhibition of tumour development in vivo by concavalin A. *Nature*, 227, 1244-1246, 1970.
  18. Fodstad O., Pihl A.. Effect of ricin and abrin on survival of L1210 leukemic mice and on leukemic and normal bone-marrow cells. *Int. J. Cancer*, 22 (5), 558-63, 1978
  19. Lin, J.K., Horng S.C., Tung T.C.. Studies on carcinogenic bifunctional aminoazo dyes. III. Synthesis and physico-chemical properties of (N, N',- dimetyl-4-amino)-, (4-amino)- and (N'-acetyl-4-amino)- NN-dimetyl-4-amino-4-aminoazobenzene: Taiwan y Hsueh Hui Tsa Chih Journal of the Forsman Medical Association, 70 (8), 431-437, 1971.
  20. Hsu C.T., Lin J.Y., Tung T.C. Further report on therapeutic effect of abrin and ricin on human cancer. Taiwan y Hsueh Hui Tsa Chih Journal of the Forsman Medical Association, 74 (9), 526-542, 1974.
  21. Fodstad O., Pihl A.. Synergistic effects of adriamycin and ricin on L1210 leukemic cells in mice. *Cancer Res.*, 40 (10), 3735-3739, 1980.
  22. Tung T.C., Lin J.Y., Hsu C.T. The mechanism of the anti-cancer activities of abrin and ricin. Taiwan y Hsueh Hui Tsa Chih Journal of the Forsman Medical Association, 73 (11), 682-884, 1974.
  23. Refsnes K., Olsnes S. & Pihl A. On the toxic proteins abrin and ricin. Studies of their binding to and entry into Ehrlich ascites cells. *J. Biol. Chem.*, 249, 3557-3562, 1974.
  24. Eckhardt A.E., Malone B.N. & Goldstein I.J.. Inhibition of Ehrlich ascites tumor cell growth by Griffonia simplicifolia I lectin in vivo. *Cancer Res.*, 42, 2977-2979, 1982
  25. Maddox D.E., Goldstein I.J. & LoBuglio A.F. Griffonia simplicifolia I lectin mediates macrophage-induced cytotoxicity against Ehrlich ascites tumor cells. *Cell Immunol.*, 71, 202-207, 1982.
  26. Maddox, D.E., S. Shibata & Goldstein I.J. Stimulated macrophages express a new glycolipid receptor reactive with Griffonia simplicifolia I-B4 isolectin. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, 79, 166-170, 1982.
  27. Knibbs R.N., Mac-Callum D.K., Lillie J.H., Goldstein I.J. Wild-type and cultured Ehrlich ascites tumor cells differ in tumorigenicity, lectin binding pattern and binding to basement membranes. *Glycobiology*, 4 (4); 419-428, 1994.
  28. Roth J., Li W.P., Knibbs R.N., Mac-Callum D.K., Song Z., Goldstein I.J. Differential expression of cell surface sialoglycoconjugates on wild-type and cultured Ehrlich ascites tumor cells as revealed by quantitative lectin-gold ultrastructural cytochemistry. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, 91 (24) 11353-11357, 1994.
  29. Chen Y.F., Boland C.R., Kraus E.R., Goldstein I.J. The lectin Griffonia simplicifolia I-A4 (GS I-A4) specifically recognizes terminal alpha-linked N-acetylgalactosaminyl groups and is cytotoxic to the human colon cancer cell lines LS1174t and SW1116. *Int. J. Cancer.*, 57 (4), 561-567, 1994.
  30. Bardocz S., Grant G., Duguid T.J., Brown D.S., Sakhi M., Pusztai A.J., Pryme I.F., Mayer D., & Way B.K. Phytohaemagglutinin in the diet induces growth of the gut and modifies some organ weights in mice. *Med. Sci. Res.*, 22, 101-103, 1994.
  31. Pryme I.F., Pusztai A.J., Bardocz S. A diet containing the lectin phytohaemagglutinin (PHA) slows down the proliferation of Krebs II cell tumours in mice. *Cancer Letter*, 76, 133-137, 1994.
  32. Pusztai A.J., Ewen S.W.B., Grant G., Brown D.S., Stewart J.C., Peumans W.J., Van Damme E.J.M., & S. Bardocz. Antinutritive effects of wheat-germ agglutinin and other N-acetylglucosamine-specific lectins. *Br. J. Nutrition*, 70, 313-321, 1993.
  33. Nachbar M.S., Oppenheim J.D. & Aull F. Interaction of lectins with plasma membrane glycoproteins of the Ehrlich ascites carcinoma cell. *Biochim. Biophys. Acta*, 419, 512-529, 1976.
  34. Tomita M., T. Osawa, Y. Sakurai & T. Ukita. On the surface structure of murine ascites tumor. I. Interactions with various phytoagglutinins. *Int. J. Cancer*, 6, 283-289, 1970.
  35. Tomita M., Kurokawa T., Onozaki K., Osawa T., Sakurai Y. & Ukita T. The surface structure of murine ascites tumor. II. Difference in cytotoxicity of various phytoagglutinins towards Yoshida sarcoma cells in vitro. *Int. J. Cancer*, 10, 602-606, 1972.
  36. Robinson E., & T. Mekori. Studies on the effect of phytohemagglutinin on ascites tumor in mice. *Isr. J. Med. Sci.*, 7, 83-89, 1971.
  37. Schumacher U., Stamouli A., Adam E., Peddie M., Pfuller U. Biochemical, histochemical and cell biological investigations on the actions of mistletoe lectins I, II and III with human breast cancer cell lines. *Glycoconj. J.*, 12, 250-257, 1995.
  38. Janssen O., Scheffler A., Kabelitz D. *In vitro* effects of mistletoe extracts and mistletoe lectins. Cytotoxicity towards tumor cells to the induction of programmed cell death (apoptosis). *Arzneimittelforschung*, 43 (11), 1221-1227, 1993.
  39. Yu L., Fernig D.G., Smith J.A., Milton J.D., Phodes J.M. Reversible inhibition of proliferation of epithelial cell lines by *Agaricus bisporus* (edible mushroom) lectin. *Cancer Res.*, 53, 4627-4632, 1993.
  40. Abdullaev F.I. & González de Mejía E. Inhibition of colony formation of HeLa cells by naturally occurring and synthetic agents. *BioFactors*, 6 (1), 1-6, 1996
  41. Nair S.C., Pannikar B. & Pannikar K.P. Antitumor activity of saffron (*Crocus sativus*). *Cancer Lett.*, 57, 109-114, 1991.
  42. Nair, S.C., Salomi M.J., Panikkar B., Panikkar K.R. Modulatory effects of the extracts of saffron and *Nigella sativa* against cisplatin-induced toxicity in mice. *J. Ethnopharmacol.*, 31,(1),75-83, 1991.
  43. Nair, S.C., Salomi M.J, Varghese C.D., Panikkar B. & Panikkar K.R. Effect of saffron on thymocyte proliferation, intracellular glutathione levels and its antitumor activity. *BioFactors*, 4 (1), 51-54, 1992.
  44. Nair S.C. & Panikkar K.P.R. Antitumor principles from *Ixora javanica* leaves. *Ind. J. Pharm. Sci.*, 52 (2); 125-128, 1990.
  45. Nair S.C., Varghese C.D., Panikkar K.P., Kurumboor S.K. & Parathod R.K. Effects of saffron on vitamin A levels and its antitumor activity on growth of solid tumors in mice. *Int. J. Pharmacog.*, 32 (2), 105-114, 1994.
  46. Salomi M.J., Nair S.C. & Panikkar K.P. Inhibitory effects of *Nigella sativa* and saffron (*Crocus sativus*) on chemical carcinogenesis in mice and its non-mutagenic activity. *Proc. Ker. Sci. Congress*, 3, 125, 1990.
  47. Salomi M.J., Nair S.C. & Panikkar K.P. Inhibitory effects of *Nigella sativa* and saffron (*Crocus sativus*) on chemical carcinogenesis in mice. *Nutrition and Cancer*, 16,(1),67-72, 1991.
  48. Abdullaev F.I. & Frenkel G.D. Effect of saffron on cell colony formation and cellular nucleic acid and protein synthesis. *BioFactors*, 3, (3), 201-204, 1992.
  49. Abdullaev F.I. & G.D. Frenkel. The effect of saffron on intracellular DNA, RNA and protein synthesis in malignant and non-malignant human cells. *BioFactors*, 4 (1), 38-41, 1992.
  50. Kim, M., M.V. Rao, D.J. Tweardy, M. Prakash, U. Galili, E. Gorelik. Lectin-induced apoptosis of tumour cells. *Glycobiology*, 3, 447-453, 1993
  51. Ryder S.D., Smith J.A., Rhodes J.M. Peanut lectin: a mitogen for normal human colonic epithelium and human HT 29 colorectal cancer cells. *J. Natl. Cancer Inst.* 84, 1410-1416, 1992.
  52. Tarantilis P.A., Polissiou M., Morjani H., Avot P., Bei Jebbar A. & Manfait M. Anticancer activity and structure of retinoic acid and carotenoids of *Crocus sativus* L. on HL60 cells. *Anticancer Res.*, 12, 1989-1992, 1992.
  53. Bruce N.A. Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radicals and degenerative diseases. *Science*, 221, 1256-1264, 1983.
  54. Burton G.W. & Ingold K.U.  $\beta$ -carotene: An unusual type of lipid antioxidant. *Science*, 224, 569-573, 1984.
  55. Morjani H., Tantilis P., Polissiou M. & Manfait M. Growth inhibition and induction of erythroid differentiation activity by crocin, dimethylcrocin and  $\beta$ -carotene on K562 tumor cells. *Anticancer Res.*, 10, 1398-1406, 1990.
  56. Morjani H., Riou J-F., Nabiev F., Lavelle Y. & Manfait M. Molecular and cellular interaction between intopicine. DNA and topoisomerase II studied by surface-enhanced Raman scattering spectroscopy. *Cancer Lett.*, 53, 4784-4790, 1993.
  57. Manfait M., Morjani H., Efreimov R., Angibousi J-F., Polissiou M. & Nabiev F. High sensitive detection of intracellular carotenoids in single

- living cancer cells as probed by surface-enhanced Raman spectroscopy. En: *Spectroscopy of Biological Molecules*. Royal Society of Chemistry (UK). Hester, R.E. and Giring, R.B. (eds) p. 303-304. 1991.
58. Mo H., Goldstein I.J. Isolation and characterization of a Forssman antigen-binding lectin from velvet bean (*Mucuna derringtoniana*) seeds. *Glycoconjugate J.*, 11, 424-4356. 1994.
59. Neidle S. & Jenkins T.C. Molecular modeling to study DNA interaction by antitumor drugs. En: *Methods in Enzymology, Molecular Design and Modeling: Concepts and Applications (part B: Antibodies and Antigens, Nucleic Acids, Polysaccharides and Drugs)* Langonc, J. (ed). Academic Press Inc., 203; p.433-458. 1991.
60. Martin Y.C. Computer-assisted rational drug design. In: Langonc, J. (ed). *Methods in Enzymology, Molecular Design and Modeling: Concepts and Applications (part B: Antibodies and Antigens, Nucleic Acids, Polysaccharides and Drugs)* Academic Press Inc., p. 203; 587-61. 1991.
61. Escribano J., Alonso G.L., Coca-Prados M., Fernandes J-A. Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (*Crocus sativus* L.) inhibit the growth of human cancer cells in vitro. *Cancer Lett.*, 100, 23-30. 1996.
62. Wyllie A.H. Apoptosis and regulation of cell numbers in normal and neoplastic tissues: an overview. *Cancer Metastasis Rev.*, 11, 95-103. 1992.

Recibido: 02-08-1996

Aceptado: 04-04-1997