



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**“Evaluación *in vitro* de la citotoxicidad de compuestos  
derivados del Éster Fenético del Ácido Caféico (CAPE),  
en diferentes líneas celulares de cáncer”**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA INDUSTRIAL

PRESENTA:

**MÓNICA BASSET RUIZ SÁNCHEZ**

ASESOR

Dr. ENRIQUE RAMÓN ANGELES ANGUIANO

COASESOR(A)

Dra. CYNTHIA ORDAZ PICHARDO

Cuautitlán Izcalli, Edo de México, 2012



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U. N. A. M.  
**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**  
SUPERIORES CUAUTITLÁN

**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO  
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**



**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ**  
Jefa del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **TESIS**  
Evaluación in Vitro de la citotoxicidad de compuestos derivados del Éster Fenilico del Ácido  
Caféico (CAPE), en diferentes líneas celulares de cáncer

Que presenta la pasante: **Mónica Basset Ruiz Sánchez**  
Con número de cuenta: **40608447-3** para obtener el Título de: **Licenciada en Química Industrial**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**  
**“POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”**  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 04 de Mayo de 2012.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	<b>NOMBRE</b>	<b>FIRMA</b>
<b>PRESIDENTE</b>	Q. <u>Ciro Ismael Salas Butrón</u>	
<b>VOCAL</b>	Dr. <u>Enrique Ramón Angeles Anguiano</u>	
<b>SECRETARIO</b>	Dr. <u>Víctor Manuel Zendejas Buitrón</u>	
<b>1er SUPLENTE</b>	MC. <u>Brigida del Carmen Camacho Enríquez</u>	
<b>2do SUPLENTE</b>	Dra. <u>Alma Lucila Núñez del Arco</u>	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).  
HHA/pm

## DEDICATORIA

A mi **Dios**, Trino y Uno, por regalarme el sueño de vivir, una maravillosa Familia y grandes Amigos, por hacerme sentir Amada y predilecta y que con Él la vida es mucho mejor y más llevadera, gracias a su iluminación, fortaleza y paciencia, he logrado llegar hasta donde estoy el día de hoy. Gracias Señor.

A mi familia que ha estado en cada momento de mi vida, ayudándome, dándome fuerzas y ánimo para seguir adelante, en especial a mis padres que tanto admiro **Laurita y Mack**, a mis hermanos **Nayi, Bibi, y Juanchito** quienes han vivido junto conmigo, el sacrificio de estar lejos de ellos durante este tiempo de preparación y porque siempre me han brindado su confianza y apoyo incondicional en momentos difíciles en los que he necesitado de su comprensión y apapacho, por demostrarme que con la dedicación y constancia se puede llegar lejos, por enseñarme que sin el Amor de una familia nada de esto sería posible, por ser el motor que me ha llevado a lograr lo que he logrado, esto es por ustedes y para ustedes. Gracias por creer en mí.

## AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Nacional Autónoma de México**, por abrirme las puertas de su casa de la cual me siento muy orgullosa de pertenecer.

A la **Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán**, por todos los buenos momentos y emociones vividas en este gran lugar.

**A los proyectos** de PAPIIT/UNAM IG200813, IN207705, IN211108-3, PAPIIT IT202412, PAPIME PE203511y por su apoyo parcial del desarrollo del proyecto y a la DGTIC-UNAM por el uso de la supercomputadora Kan Balam. Parte del trabajo de la cátedra “Diseño de Sustancias Bioactivas” FESC-UNAM.

**Al Dr. Enrique Angeles**, por darme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo en el Laboratorio de Química Medicinal, por confiar en mí capacidad de decidir y de hacer las cosas, por tener el noble gesto de brindarle sus conocimientos y experiencias a esta alumna que tanto lo admira y respeta, pero sobre todo gracias por su amistad y por ser la gran persona que es.

**A la Dra. Cynthia Ordaz**, por aceptarme como su tesista en este proyecto que me ha dejado tanto en conocimiento, por permitirme aprender y colaborar en otros proyectos con otros compañeros de esta área, por su dedicación y tiempo en la revisión de esta tesis, pero sobre todo gracias por confiar en mi trabajo a sabiendas de mi inexperiencia.

**Al Dr. Andrés Romero**, por brindarme todas las facilidades de trabajar en su laboratorio (Biología Celular), por su disponibilidad de tiempo en revisar con detenimiento mi trabajo de tesis, dándome herramientas para que mi trabajo y presentación fuesen mejor y de quien me he sentido respaldada por su interés en mi desarrollo profesional.

**A la Dra. Ana María Velázquez**, quien con su apoyo cálido y fraterno me hizo saber que todo sacrificio hecho por amor y con amor vale la pena, por esos momentos de consuelo cuando uno no veía el final del camino, por confiar en mi trabajo y por querer siempre brindarme las mejores oportunidades laborales, pero sobre todo gracias por su amistad y por ser la maravillosa persona que es.

A mis compañeros del **LQM, Pablo, Vic I, Vic II, Jaz y Dianita**, por compartir sus valiosos conocimientos, por todos esas experiencias agradables y difíciles que vivimos juntos, porque con su amistad y apoyo lograron hacer más agradable mi estancia en el laboratorio. Gracias.

**A mis compañeros del Homeopatía, Mari Cortez, Iván, Susana, Rebe, Paty**, de quienes tanto aprendí y que con paciencia lograron enseñarme, por todos los convivios celebrados que con o sin motivo no las hemos pasado muy bien. Gracias

**A mis compañeros de la generación 11 de Química Industrial; Eli, Verito, Miriaam, Julieta, Olivia, Carlitos, Vero Serafín, Imelda, Angélica, Bere, Jaime, Cristian, Niño, Oscar, Magy, Dulce** por regalarme su amistad, por todos los momentos agradables que pasamos juntos fuera y dentro de la facultad, lográndola hacer inolvidable, **a Huguito, Miguel “Güero”, Enrique “Chunta”, Carlos “Cañal”, Chava, Omar “Viejito”, Javi, Héctor “Brodi”,** que con su humor característico hicieron más amenas las clases. ¡Gracias!

**A mi gran amiga Karen**, quien se convirtió en otra hermana para mí, con quien he vivido experiencias maravillosas en las que juntas hemos aprendido y valorado cada vez más esta amistad, gracias por permitirme formar parte de tu vida, que Dios nos conceda estar juntas hasta el fin de nuestros días, te quiero mucho Karencita.

**A mi inigualable Fabiola, amiga** de toda la vida, tantos años de conocernos, tantas vivencias juntas nos han permitido fortalecer cada día esta maravillosa amistad, gracias por tu compañía, por tu confianza y comprensión, por aceptarme tal y como soy así no más, ruego a Dios que nos permita conservar nuestra amistad toda la vida. Gracias negrita, te quiero mucho.

Especialmente agradezco **a mi hermana Nayi**, hermana de mi alma, por darme siempre palabras de aliento cuando más lo necesitaba, por hacerme sentir que a pesar de la distancia nunca he estado sola, por permitirme ser madre espiritual de tu pequeño Angelito, gracias por cuidarme y por el amor sincero que me has dado, doy gracias a la vida y a Dios por haberme dado una hermana como tú. Te Amo mucho hermanita. Gracias.

# ÍNDICE

Pág.

ÍNDICE DE FIGURAS.....	i
ÍNDICE DE TABLAS.....	iii
RESUMEN.....	A

## 1. GENERALIDADES

### 1.1 Cáncer

1.1.1 Apoptosis (Muerte celular programada).....	3
1.1.2 Reacción inmunitaria.....	3
1.1.3 Linfocitos.....	3
1.1.3.1 Inmunoglobulinas.....	3
1.1.3.2 Linfocitos T y B.....	4

### 1.2 Epidemiología

1.2.1 Epidemiología mundial .....	5
1.2.2 Epidemiología nacional .....	5

### 1.3 Cáncer de mama

1.3.1 Anatomía patológica.....	8
1.3.2 Estadificación .....	8
1.3.3 Factores de riesgo.....	8
1.3.3.1 Alimentación.....	8
1.3.3.2 Consumo de alcohol .....	8
1.3.3.3 Anticonceptivos orales y tratamiento hormonal sustitutivo.....	8
1.3.3.4 Factores menstruales y reproductores.....	9
1.3.3.5 Enfermedades benignas de la mama .....	9
1.3.4 Diagnóstico.....	9
1.3.4.1 Mamografía.....	9
1.3.4.2 Ecografía .....	10
1.3.5 Tratamiento.....	10

### 1.4 Cáncer cervical

1.4.1 Anatomía patológica .....	11
1.4.2 Estadificación.....	11
1.4.3 Factores de riesgo.....	13
1.4.4 Diagnóstico .....	13
1.4.5 Tratamiento .....	13

### 1.5 Cáncer de próstata

1.5.1 Anatomía y función de la próstata.....	14
1.5.2 Estadificación .....	15
1.5.3 Factores de riesgo .....	15
1.5.4 Diagnóstico.....	16
1.5.5 Tratamiento.....	16

## 2. FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS

2.1 Actividad de los medicamentos en distintas fases del ciclo celular.....	18
2.2 Mecanismo de acción de los antineoplásicos.....	18
2.3 Resistencia a la acción de los fármacos.....	20

<b>3.</b>	<b>ANTINEOPLÁSICOS (QUÍMICOS)</b>	
3.1	Efectos secundarios de los antineoplásicos.....	22
3.1.1	Depresión de la médula ósea.....	22
3.1.2	Afectación de las mucosas del aparato digestivo.....	23
3.1.3	Afectación de los folículos pilosos .....	23
3.1.4	Alteración de las gónadas.....	23
<b>4.</b>	<b>PRODUCTOS NATURALES</b>	
4.1	Mecanismos generales de acción de antineoplásicos naturales .....	23
<b>5.</b>	<b>PROPÓLEO</b>	
5.1	Composición química del propóleo.....	24
5.2	Propiedades y actividad biológica.....	25
5.3	Estudios realizados con el propóleo.....	26
<b>6.</b>	<b>ESTER FENÉTICO DEL ÁCIDO CAFÉICO (CAPE)</b>	
6.1	Estudios realizados con CAPE.....	28
6.2	Estudios realizados en México .....	34
6.3	Estudios realizados con los análogos al CAPE .....	35
<b>7.</b>	<b>JUSTIFICACIÓN</b>	
<b>8.</b>	<b>OBJETIVOS</b>	
8.1	Objetivo general .....	38
8.2	Objetivos específicos.....	38
<b>9.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
9.1	Compuestos derivados del CAPE .....	39
9.2	Líneas celulares y Cultivo primario.....	40
9.2.1	Características de la línea celular MDA-MB-231.....	40
9.2.2	Características de la línea celular HeLa.....	41
9.2.3	Características de la línea celular PC-3.....	41
9.3	Almacenamiento y congelamiento .....	41
9.4	Evaluación de la citotoxicidad con MTT .....	42
9.4.1	Procedimiento .....	43
9.5	Evaluación de la citotoxicidad con Cristal Violeta (CV) .....	43
9.5.1	Procedimiento .....	44
9.6	Análisis de los resultados.....	44
9.7	Cálculo de IC <sub>50</sub> .....	44
<b>10.</b>	<b>RESULTADOS DEL TAMIZ PARA LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS, EVALUADAS CON LA TÉCNICA DE MTT</b>	
10.1	Efecto citotóxico de los compuestos LQM 700 en la línea celular <b>MDA-MB 231</b> evaluada con la técnica de MTT .....	45
10.2	Efecto citotóxico de los compuestos LQM 700 en la línea celular <b>HeLa</b> , evaluada con la técnica de MTT.....	45
10.3	Efecto citotóxico de los compuestos LQM 700 en la línea celular <b>PC3</b> , evaluada con la técnica de MTT .....	46
<b>11.</b>	<b>RESULTADOS DEL TAMIZ PARA LINFOCITOS Y FIBROBLASTOS EVALUADAS CON LA TÉCNICA DE MTT</b>	
11.1	Efecto citotóxico de los compuestos LQM700 en un <b>cultivo primario</b> no Canceroso ( <b>linfocitos</b> ), evaluada con la técnica de MTT .....	47



11.2	Efecto citotóxico de los compuestos LQM700 en <b>tejido de células sanas (fibroblastos)</b> , evaluada con la técnica de MTT .....	48
<b>12.</b>	<b>RESULTADOS DEL TAMIZ PARA LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS EVALUADAS CON LA TÉCNICA DE CV</b>	
12.1	Efecto citotóxico de los compuestos LQM700 en la línea celular <b>MDA-MB 231</b> , evaluada con la técnica de CV .....	49
12.2	Efecto citotóxico de los compuestos LQM700 en la línea celular <b>HeLa</b> , evaluada con la técnica de CV .....	49
12.3	Efecto citotóxico de los compuestos LQM700 en la línea celular <b>PC-3</b> , evaluada con la técnica de CV .....	50
<b>13.</b>	<b>RESULTADOS DEL TAMIZ PARA LINFOCITOS Y FIBROBLASTOS EVALUADAS CON LA TÉCNICA DE CV</b>	
13.1	Efecto citotóxico de los compuestos LQM700 en un cultivo primario no canceroso (linfocitos), evaluada con la técnica de CV.....	51
13.2	Efecto citotóxico de los compuestos LQM700 en un tejido de células sanas (fibroblastos), evaluada con la técnica de CV.....	52
13.3	Resultados del Tamiz.....	52
<b>14.</b>	<b>RESULTADOS DE LA CINÉTICA</b>	
14.1	Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738, 755, en células cancerígenas de mama <b>MDA-MB 231</b> evaluada con la técnica de <b>MTT</b> .....	53
14.2	Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738, 755, en células cancerígenas de mama <b>MDA-MB231</b> evaluada con la técnica de <b>CV</b> .....	54
14.3	Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738, 755, en células cancerígenas de cérvix <b>HeLa</b> evaluada con la técnica de <b>MTT</b> .....	55
14.4	Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738, 755, en células cancerígenas de cérvix <b>HeLa</b> evaluada con la técnica de <b>CV</b> .....	56
14.5	Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738, 755, en células cancerígenas de próstata <b>PC-3</b> evaluada con la técnica de <b>MTT</b> .....	57
14.6	Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738, 755, en células cancerígenas de próstata <b>PC-3</b> evaluada con la técnica de <b>CV</b> .....	58
14.7	Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738, 755, en células ( <b>PBMC</b> ) evaluada con la técnica de <b>MTT</b> .....	59
14.8	Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738 y 755 en células ( <b>PBMC</b> ) evaluada con la técnica de <b>CV</b> .....	60
14.9	Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738 y 755 en un tejido de células sanas ( <b>fibroblastos</b> ), evaluada con la técnica de <b>MTT</b> .....	61
<b>15.</b>	Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738 Y 755 en ( <b>FIBROBLASTOS</b> ), evaluada con la técnica de CV .....	62
<b>16.</b>	<b>CÁLCULO DE LA IC<sub>50</sub></b> .....	64
16.1	Resultados de la IC <sub>50</sub> para ensayo MTT .....	65
16.2	Resultados de la IC <sub>50</sub> para ensayo Cristal Violeta.....	66
<b>17.</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	67
<b>18.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	75
<b>19.</b>	<b>PROSPECTIVAS</b> .....	76
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	77

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura. 1</b> Etapas de un tumor.....	2
<b>Figura. 2</b> Características de la muerte celular por apoptosis en la observación con el microscopio electrónico. ....	3
<b>Figura. 3</b> Glóbulos rojos y un linfocito. ....	4
<b>Figura. 4</b> Incidencia y mortalidad del cáncer en hombres y mujeres a nivel mundial .....	5
<b>Figura.5</b> Distribución porcentual de decesos por tumores malignos 2011.....	6
<b>Figura.6</b> Porcentaje de defunciones en mujeres debidas a tumores malignos (Cinco principales causas) 1998-2008.....	6
<b>Figura.7</b> Porcentaje de defunciones en hombres debidas a tumores malignos (5 principales causas) 1998-2008.....	7
<b>Figura.8</b> Partes de la mama donde se desarrolla el cáncer.....	7
<b>Figura.9</b> Carcinoma de cérvix.....	10
<b>Figura. 10</b> Antígeno prostático.....	14
<b>Figura. 11</b> Mecanismo y sitios de acción de quimioterapéuticos útiles contra enfermedades neoplásicas.....	19
<b>Figura.12</b> Estructura química del CAPE.....	28
<b>Figura.13</b> Transformación del MTT a Formazán.....	42
<b>Figura.14</b> Porcentaje de viabilidad de la línea neoplásica <b>MDA-MB 231</b> , tratada con 30 compuestos de la serie LQM 700 expuestas por 24 h a la concentración 100 $\mu$ M .....	45
<b>Figura.15</b> Porcentaje de viabilidad de la línea neoplásica <b>HeLa</b> , tratada con 30 compuestos de la serie LQM 700 expuestas por 24 h a la concentración 100 $\mu$ M .....	46
<b>Figura.16</b> Porcentaje de viabilidad de la línea neoplásica <b>PC3</b> , tratada con 30 compuestos de la serie LQM 700 expuestas por 24 h a la concentración 100 $\mu$ M .....	46
<b>Figura.17</b> Porcentaje de viabilidad celular de un cultivo primario no canceroso (linfocitos), tratado con 30 compuestos de la serie LQM700 expuestas por 24 h a la concentración 100 $\mu$ M .....	47
<b>Figura.18</b> Porcentaje de viabilidad celular en un tejido de células sanas (fibroblastos), tratado con 30 compuestos de la serie LQM700 expuestas por 24 h a la concentración 100 $\mu$ M .....	48
<b>Figura.19</b> Porcentaje de viabilidad de la línea neoplásica <b>MDA-MB 231</b> , tratada con 30 compuestos de la serie LQM700 expuestas por 24 h a la concentración 100 $\mu$ M .....	49
<b>Figura.20</b> Porcentaje de viabilidad de la línea neoplásica <b>HeLa</b> , tratada con 30 compuestos de la serie LQM700 expuestas por 24 h a la concentración 100 $\mu$ M .....	50
<b>Figura.21</b> Porcentaje de viabilidad de la línea neoplásica <b>HeLa</b> , tratada con 30 compuestos de la serie LQM700 expuestas por 24 h a la concentración 100 $\mu$ M .....	50
<b>Figura.22</b> Porcentaje de viabilidad celular de un cultivo primario no canceroso (linfocitos), tratado con 30 compuestos de la serie LQM 700 expuestas por 24 h a la concentración 100 $\mu$ M.....	51

<b>Figura.23</b> Porcentaje de viabilidad celular en un tejido de células sanas (fibroblastos), tratado con 30 compuestos de la serie LQM700 expuestas por 24 h a la concentración 100 $\mu$ M .....	52
<b>Figura.24</b> Porcentaje de viabilidad celular de la línea neoplásica <b>MDA-MB 231</b> , tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50, y 100 $\mu$ M evaluada con la técnica de MTT.....	54
<b>Figura. 25</b> Porcentaje de viabilidad celular de la línea neoplásica <b>MDA-MB231</b> , tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50, y 100 $\mu$ M evaluada con la técnica de CV .....	55
<b>Figura. 26</b> Porcentaje de viabilidad celular de la línea neoplásica <b>HeLa</b> , tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50, y 100 $\mu$ M evaluada con la técnica de MTT.....	56
<b>Figura. 27</b> Porcentaje de viabilidad celular de la línea neoplásica <b>HeLa</b> , tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50, y 100 $\mu$ M evaluada con la técnica de CV .....	57
<b>Figura. 28</b> Porcentaje de viabilidad celular de la línea neoplásica <b>PC-3</b> , tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50, y 100 $\mu$ M evaluada con la técnica de MTT .....	58
<b>Figura. 29</b> Porcentaje de viabilidad celular de la línea neoplásica <b>PC-3</b> , tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50, y 100 $\mu$ M evaluada con la técnica de CV .....	59
<b>Figura. 30</b> Porcentaje de viabilidad de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50, y 100 $\mu$ M, expuesta por 12 y 24h, evaluada con la técnica de MTT .....	60
<b>Figura. 31</b> Porcentaje de viabilidad celular en un tejido de células sanas (fibroblastos), tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50, y 100 $\mu$ M, expuestas por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de MTT .....	61
<b>Figura. 32</b> Porcentaje de viabilidad de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50, y 100 $\mu$ M, expuesta por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de CV .....	62
<b>Figura. 33</b> Porcentaje de viabilidad celular en un tejido de células sanas (fibroblastos), tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50, y 100 $\mu$ M, expuestas por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de MTT .....	63

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla .1</b> Estadificación del cáncer cervical.....	12
<b>Tabla. 2</b> Ejemplo de fármacos antineoplásicos.....	21
<b>Tabla. 3</b> Composición promedio del propóleo .....	25
<b>Tabla. 4</b> Porcentaje de viabilidad celular de la línea de cáncer de mama <b>MDA-MB 231</b> tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de MTT .....	53
<b>Tabla. 5</b> Porcentaje de viabilidad celular de la línea de cáncer de mama <b>MDA-MB 231</b> tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de MTT .....	54
<b>Tabla. 6</b> Porcentaje de viabilidad celular de la línea de cáncer de cérvix <b>HeLa</b> tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de MTT .....	55
<b>Tabla. 7</b> Porcentaje de viabilidad celular de la línea de cáncer de cérvix <b>HeLa</b> tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de CV .....	56
<b>Tabla. 8</b> Porcentaje de viabilidad celular de la línea de cáncer de próstata <b>PC-3</b> tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de MTT .....	57
<b>Tabla. 9</b> Porcentaje de viabilidad celular de la línea de cáncer de próstata <b>PC-3</b> tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de CV.....	58
<b>Tabla.10</b> Porcentaje de viabilidad de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) tratadas con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12y 24 h, evaluada con la técnica de MTT .....	59
<b>Tabla.11</b> Porcentajes de viabilidad celular en un tejido de células sanas (fibroblastos), tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755 expuestas por 12 y 24 h evaluada con la técnica de MTT .....	60
<b>Tabla.12</b> Porcentajes de viabilidad de las células mononucleares de sangre periférica(PBMC)tratadas con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12y 24 h, evaluada con la técnica de CV .....	61
<b>Tabla.13</b> Porcentajes de viabilidad celular en un tejido de células sanas (fibroblastos), tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755 expuestas por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de CV .....	63
<b>Tabla.14</b> Resultados de la IC <sub>50</sub> de los compuestos LQM731, 738,755 para las tres líneas celulares neoplásicas MDA-MB 231, HeLa y PC-3 así también para el cultivo primario de células sanas (linfocitos) y tejido sano (fibroblastos) a los tiempos de exposición de 12 y 24 h .....	64

## RESUMEN

El cáncer es la condición en que las células de un organismo proliferan descontroladamente. En México, los tumores malignos ocupan el tercer lugar de fallecimientos, la mayoría de las muertes en mujeres son causadas por el cáncer de mama (CaM) en un (15%) y cáncer cérvico-uterino (CaCu) siendo este la segunda causa de muerte por cáncer en mujeres con un (14%). Los hombres son afectados por el cáncer de próstata (CaP) en un (17.1%) de la población en México. (Juárez, 2011) El CaM es el crecimiento desenfrenado de células malignas en el tejido mamario, el CaCu es una tumoración maligna que se presenta en cuello de la matriz y el CaP es el desarrollo de células indiferenciadas dentro de la próstata. A nivel mundial, el cáncer es la principal causa de mortalidad, se le atribuyen 7.9 millones de defunciones ocurridas en 2007. La Organización Mundial de la Salud (OMS), estima que alrededor de 84 millones de personas morirán a causa de esta enfermedad entre 2005 y 2015. (INEGI, 2010)

Lo más común para el tratamiento de este tipo de padecimientos son la cirugía, radioterapia quimioterapias o una combinación de métodos. Los fármacos utilizados en su tratamiento no han cumplido las expectativas terapéuticas, generando efectos secundarios. Algunos de ellos han sido considerados como posibles mutágenos y las células tumorales han generado resistencia a ellos, además de eliminar células cancerosas también dañan a las células sanas. Por lo antes mencionado es importante continuar buscando compuestos con potencial terapéutico que ayuden a combatir esta enfermedad.

Otros posibles terapéuticos, pueden encontrarse en la síntesis química de compuestos derivados de productos naturales que puedan tener esta actividad antineoplásica, y al mismo tiempo disminuyan esos efectos secundarios, y sean más eficaces en el tratamiento del cáncer. Un ejemplo de ello es el Éster Fenetílico del Ácido Caféico (CAPE) sustancia contenida en el propóleo de las abejas, el cual es un potente inhibidor selectivo en el crecimiento de las células neoplásicas que no afecta a las células normales (linfocitos).

El grupo del Dr. Enrique Ángeles se ha encargado de sintetizar una gama de compuestos análogos del CAPE denominada (serie LQM700) las cuales han sido analizados en este trabajo evaluándoles su actividad citotóxica, primeramente se pusieron a prueba 30 compuestos de la serie a la concentración 100µM en tres líneas celulares neoplásicas como son, MDA-MB 231 (cáncer de mama), HeLa (cáncer de cérvix) y PC-3 (cáncer de próstata), además de emplear un cultivo primario de células mononucleares de sangre periférica (linfocitos) y células de tejido sano (fibroblastos), la citotoxicidad fue probada mediante la técnica de Bromuro de 3(4,5 dimetil-2-tiazolil)-2,5- difeniltetrazólico (MTT) y Cristal Violeta (CV).

Después se seleccionaron los tres compuestos más citotóxicos, los cuales fueron evaluados a concentraciones de (12.5, 18.75, 25, 37.5, 50 y 100 µM) en las tres líneas celulares neoplásicas ya mencionadas y en el cultivo primario de células mononucleares de sangre periférica (linfocitos) y células de tejido sano (fibroblastos). Mediante las técnicas de MTT y CV, a 12 y 24 h. Como control positivo se utilizó Taxol (0.5 µM) y como control negativo al DMSO 0.1 %.

Con los datos obtenidos del porcentaje de viabilidad se calculó el valor de la concentración inhibitoria al 50% (IC<sub>50</sub>). Los compuestos que obtuvieron la mejor IC<sub>50</sub> para ambas técnicas expuestas durante 24 h, fueron el **LQM755** que dio valores de la IC<sub>50</sub> para la técnica de MTT de **29 a 57 µM**, en la técnica de CV dieron valores de **37 a 58 µM** y para el **LQM 738** el valor de la IC<sub>50</sub> en la técnica de MTT fue de **25 a 48 µM**, y para CV dieron valores de **28 a 65 µM**.

Los compuesto que no presentaron toxicidad a las células mononucleares de sangre periférica (linfocitos) a un tiempo de 24h para la técnica de MTT fue el **LQM755** con una IC<sub>50</sub> por arriba de **200 µM** y el **LQM738** dando un IC<sub>50</sub> por arriba de **100 µM**. Para el ensayo de CV fue el **LQM 731** con una concentración por arriba de **300 µM** seguido del **LQM738** con una concentración inhibitoria por arriba de **100 µM**.

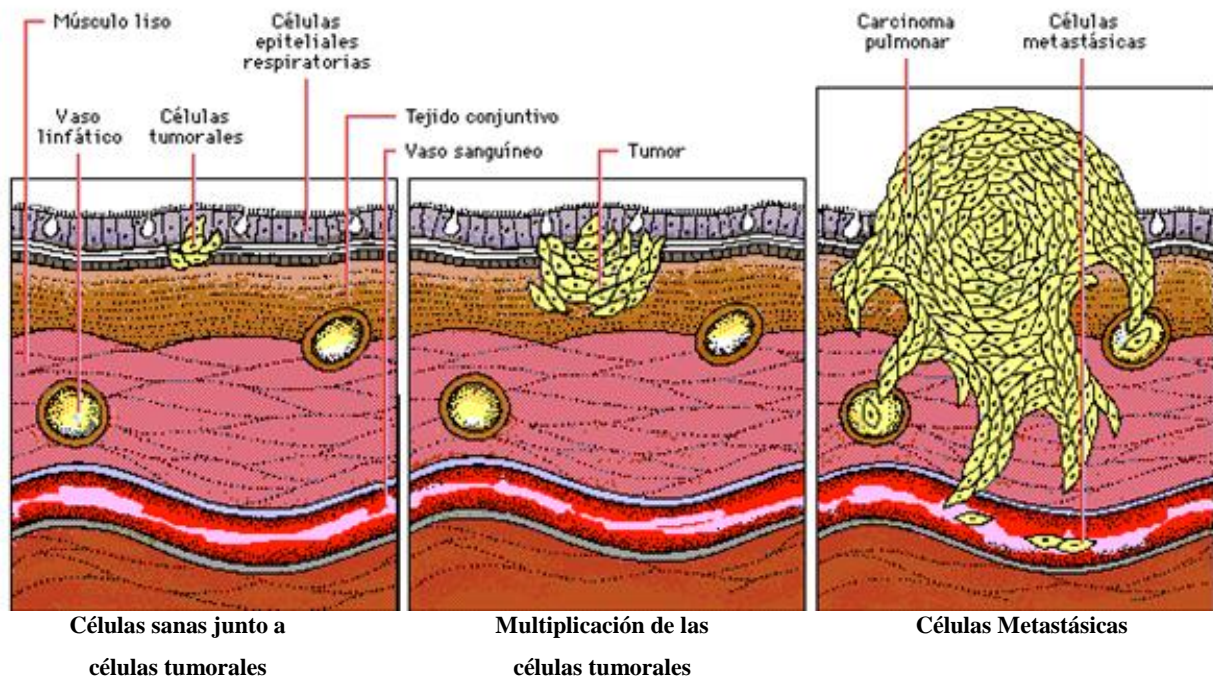
# 1. GENERALIDADES

## 1.1 Cáncer

El cáncer se debe a fallas en los mecanismos que controlan el crecimiento y la proliferación celular. Durante el desarrollo normal de la vida adulta, intrincados sistemas de control genético regulan el balance entre el nacimiento y la muerte celular en respuesta a señales de crecimiento, de inhibición del crecimiento y de muerte, estas pérdidas de regulación dan origen a la mayoría o a todos los casos de cáncer. En la aparición del cáncer se han amplificado mutaciones en dos clases de genes: Los protooncogenes y los genes supresores de tumores. Los protooncogenes son activados para volverse oncogenes mediante mutaciones que los hacen excesivamente activos en la promoción del crecimiento. (Lodish, 2005)

Los genes supresores de tumores normalmente restringen el crecimiento, por lo que si se dañan se produce un crecimiento inapropiado. Muchos de los genes en ambas clases codifican proteínas que ayudan a regular el nacimiento o la muerte celular mediante apoptosis; otros codifican proteínas que participan en la reparación del ADN dañado. En realidad cerca del 20% de los tumores resultan de una interacción desafortunada con algún agente infeccioso como los virus o exposición a agentes carcinógenos como ciertos químicos y radiaciones ultravioleta. (Juárez, 2011)

Los procesos de formación de cáncer, denominados **oncogénesis o tumorigénesis** son una interacción entre la genética y el medio ambiente. La mayoría de los cánceres aparecen luego de que los genes son alterados por carcinógenos o por errores en el copiado y reparación de genes. Aún si el daño genético tiene lugar solo en una célula somática, la división de esta célula lo transmitirá a las células hijas y dará origen a un clon de células alteradas, este crece y forma un tumor. En algunos casos, las células del tumor primario migran hacia nuevos sitios (metástasis) donde producen tumores secundarios que con frecuencia tienen el más alto impacto sobre la salud. Figura 1. (Lodish, 2005)



**Figura 1.** Etapas de un tumor

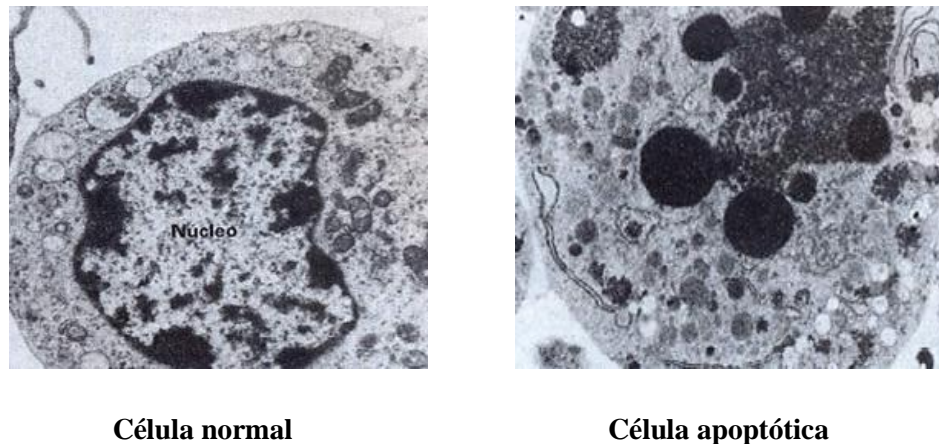
Las células que inician los tumores no son las células diferenciadas si no sus células precursoras. Las células completamente diferenciadas por lo general se dividen. A medida que mueren o se agotan son remplazadas por proliferación y diferenciación de las células madre, células capaces de transformarse en tumorales. Debido a que las células madre pueden dividirse continuamente a lo largo de la vida de un organismo, las mutaciones oncogénicas de su ADN pueden acumularse y transformarlas por último en células cancerosas. (Lodish, 2005)

Los cánceres se clasifican de acuerdo con el tejido y con el tipo celular a partir del cual se origina. Los **carcinomas** son los cánceres derivados de las células epiteliales y son los más frecuentes en las personas; los **sarcomas** son los que derivan del tejido conjuntivo o de fibras musculares. Entre los cánceres que no encajan en estas categorías se encuentran las diversas formas de **leucemia** y **linfomas** derivados de las células de la línea blanca sanguínea y de sus precursoras (células hematopoyéticas). (Alberts, 2008)



### 1.1.1 Apoptosis (Muerte celular programada)

La apoptosis o muerte celular programada es un hecho normal en la que una secuencia organizada de fenómenos conduce a la muerte de la célula (Figura 2.), siendo este un proceso limpio y ordenado caracterizado por el encogimiento general del volumen de la célula y su núcleo, pérdida de la adhesión de las células contiguas, formación de vesículas en la superficie celular, disección de la cromatina en pequeños fragmentos y el englobamiento rápido del “cadáver” por fagocitosis.



**Figura 2. Características de la muerte celular por apoptosis en la observación con el microscopio electrónico.** Microfotografía que comparan una célula normal (izquierda) y una célula apoptótica (derecha) en esta última se ve claramente esferas densas de cromatina compactada a medida que el núcleo comienza a fragmentarse. (Lodish, 2005)

### 1.1.2 Reacción inmunitaria

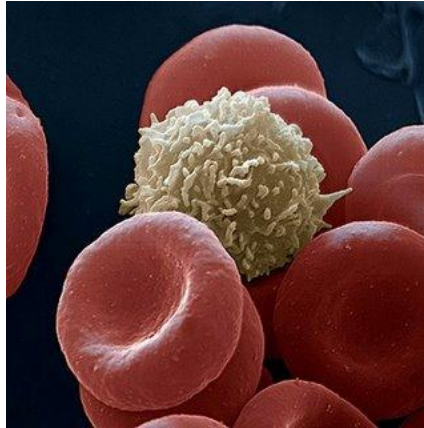
La inmunidad deriva de las actividades combinadas de muchas células diferentes, algunas de las cuales vigilan el cuerpo, mientras que otras se concentran en órganos linfoides, como la médula ósea, timo, bazo y ganglio linfático. Si se identifica material extraño, el sistema inmunitario establece un ataque específico y concertado contra éste.

### 1.1.3 Linfocitos

#### 1.1.3.1 Inmunoglobulinas

El sistema inmunológico puede reconocerse como dos entidades independientes atendidas por células linfáticas distintas: Los linfocitos T, que derivan del timo y supervisan la inmunorregulación y la función de la inmunidad celular y los linfocitos B, que sintetizan y secretan anticuerpos (inmunoglobulinas).Figura 3.

Estos anticuerpos son proteínas producidas por el sistema inmunológico, que presentan una especificidad definida para una partícula extraña (inmunógeno), frente a la que el sistema estimuló su síntesis. Sin embargo, no todas las sustancias extrañas que entran en el organismo pueden evocar esta respuesta, mientras que las que lo hacen se denominan inmunógenos, se llama antígeno a cualquier agente que pueda ser fijado por un anticuerpo.



**Figura 3.** Glóbulos rojos y un linfocito

Las células principalmente responsables son los linfocitos que se localizan en el tejido linfoide; hay dos tipos principales:

**Células T**, responsables de la inmunidad celular específica.

**Células B**, responsables de la inmunidad humoral específica.

El término “celular” se refiere a aquellos aspectos mediados por las células T y el término “humoral” a aquellos aspectos mediados por los anticuerpos (que son los productos de los otros tipos de linfocitos principales, las células B).

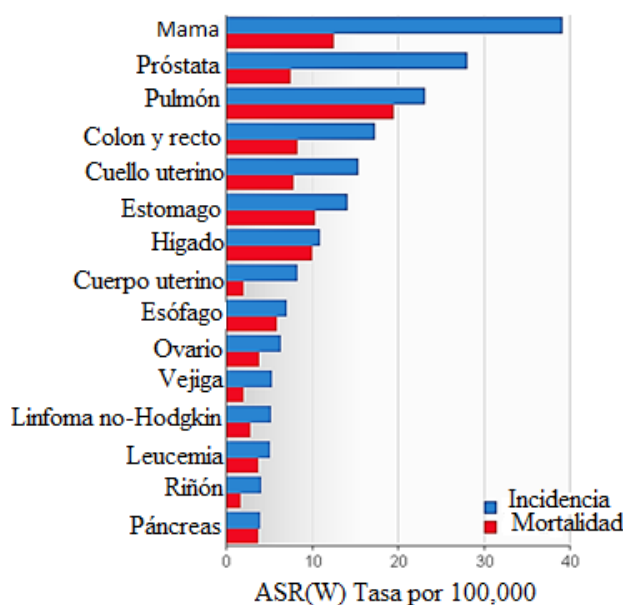
#### *1.1.3.2 Linfocitos T y B*

Las células principales implicadas en la respuesta inmunitaria son los linfocitos. Una tercera población denominada células natural Killer (NK) constituyen el resto. Las células NK se denominan así debido a su demostrada capacidad para destruir células neoplásicas sin exposición previa o sensibilización. A pesar de su diferente función, no es posible identificar ningún hallazgo morfológico que pueda utilizarse para distinguir entre estas poblaciones de linfocitos. (Baynes, 1985)

## 1.2 EPIDEMIOLOGIA

### 1.2.1 Epidemiología mundial

A nivel mundial, el cáncer es la primera causa de mortalidad. En 2008, fallecieron por alguna neoplasia, 7.9 millones de personas que representan 13% de las defunciones generales. Estas defunciones se debieron principalmente al cáncer de pulmón (primer lugar entre los hombres) y mama (primer lugar entre las mujeres). De acuerdo con las estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se espera que las muertes por neoplasias sigan en aumento y alcancen 12 millones de casos para 2030. Figura 4. (OMS, 2009)



**Figura 4.** Incidencia y mortalidad del cáncer en hombres y mujeres a nivel mundial (OMS, 2009)

El consumo de tabaco es un importante factor de riesgo de contraer cáncer. El consumo nocivo de alcohol, la mala alimentación y la inactividad física son otros factores de riesgo importantes. Ciertas infecciones causan hasta un 20% de las muertes por cáncer en los países de ingresos bajos y medianos y un 9% en los países de ingresos altos. (OMS, 2009)

### 1.2.2 Epidemiología nacional

En México según datos de Secretaria de la Salud, los tres principales tipos de neoplasia que causan defunciones en mujeres es el cáncer de mama (15%), cuello del útero (14%), e hígado (9.2%). En varones, el de próstata (17.1%), tráquea, bronquios y pulmón (16%). Figura 5.(Juárez, 2011)



Figura 5. Distribución porcentual de decesos por tumores malignos 2011

Es importante mencionar que en México, el cáncer de mama es detectado principalmente por la propia mujer en etapas avanzadas; por ello, la promoción de la autoexploración y del examen clínico de senos adquiere una gran relevancia en la prevención y el control, en países como el nuestro. (INEGI, 2010)

El **cáncer de mama** ha mostrado relativa estabilidad en cuanto a los grupos de edad que impacta, el grupo de 60 años y más concentra los mayores porcentajes de defunciones por esta enfermedad, seguido por el de 50 a 59 y el de 40 a 49 años. El cáncer del **cuello del útero** tiene una tasa de 41.82 por cada 100 mil mujeres, siendo también la tasa más alta en la población femenina de 30 a 59 años (10.24 por cada 100 mil mujeres). Figura 6. (INEGI, 2010)

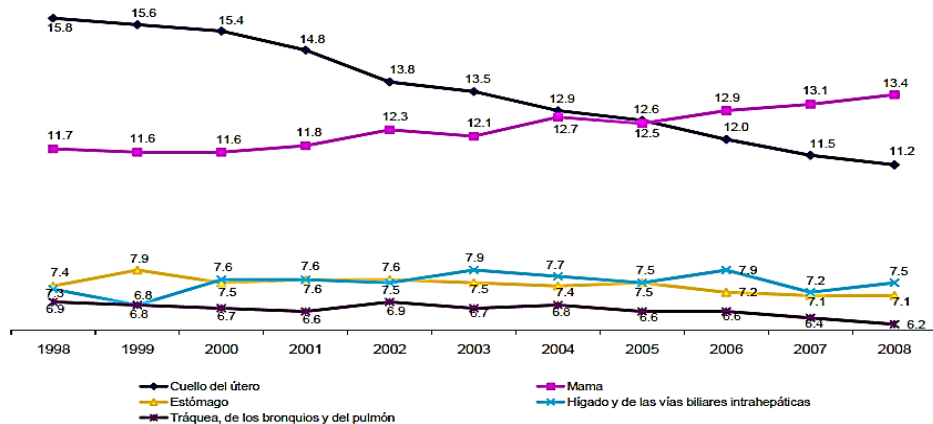


Figura 6. Porcentaje de defunciones en mujeres debidas a tumores malignos 1998-2008

Las muertes por lesiones malignas de **próstata**, en el periodo (diez años) tiene un ligero incremento de 1.4 puntos porcentuales; por lo cual, desde 2003 se inicia un aumento que la acerca a ser la primera causa de muerte en varones, hasta 2006 en que ocupa el primer lugar. En relación con el cáncer de **próstata**, cuando se analizan las defunciones por grupos de edad en los últimos diez años, se observa que los fallecimientos por este tipo de cáncer se concentran en hombres mayores de 50 años, representando según el año, de 3.9% a 4.6% en el grupo de 50 a 59 años y de 94.5% a 94.9% entre los 60 años y más; de manera general. Figura 7. (INEGI, 2010)

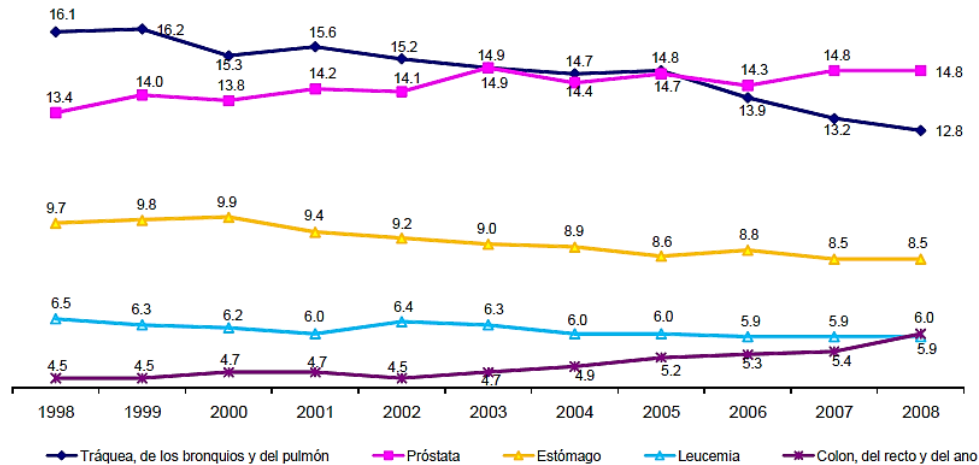


Figura 7. Porcentaje de defunciones en hombres debidas a tumores malignos 1998-2008

### 1.3 CÁNCER DE MAMA

El **cáncer de mama** (CaM) es el crecimiento descontrolado de células malignas en el tejido mamario. Existen dos tipos principales de (CaM), el carcinoma ductal, la más frecuente que comienza en los conductos que llevan leche desde la mama hasta el pezón y el carcinoma lobulillar que comienza en partes de las mamas, llamadas lobulillos, que producen la leche materna. Figura 8. (MedlinePlus, 2009)

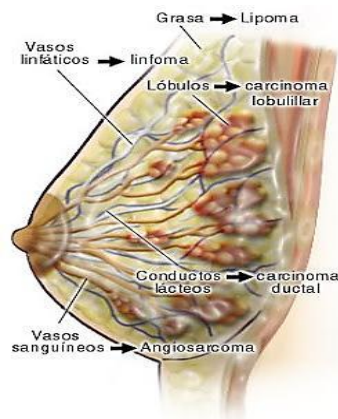


Figura 8. Partes de la mama donde se desarrolla el cáncer

### **1.3.1 ANATOMÍA PATOLÓGICA**

La mayoría de los CaM derivan de la unidad ducto-lobulillar. Las células cancerígenas derivadas de otros tejidos se consideran infrecuentes en el CaM. El término «Carcinoma *in situ*» se refiere al tipo de cáncer que se encuentra confinado en la luz de los ductos o de los lobulillos glandulares, sin invadir los tejidos vecinos. Por su parte, el carcinoma invasivo prolifera en demasía hasta romper la llamada membrana basal y extenderse infiltrando los tejidos que rodean a los ductos y lobulillos mamarios, penetrando así el tejido circundante.

### **1.3.2 ESTADIFICACIÓN**

La estadificación principal incluye:

- Estadío 0: Es una enfermedad pre-maligna o con marcadores positivos (a veces llamada CDIS: *carcinoma ductal 'in situ'*).
- Los estadíos 1-3 se definen como los inicios del cáncer y potencialmente curables.
- El estadío 4 se define como cáncer en etapa avanzada y/o cáncer metastásico porque el cáncer se diseminó hasta otros órganos del cuerpo, con mayor frecuencia hasta los huesos, los pulmones, el hígado o el cerebro y se considera incurable. (MedlinePlus, 2009)

### **1.3.3 FACTORES DE RIESGO**

Muchos estudios demuestran que el riesgo de que una mujer padezca un cáncer de mama aumenta con el número de parientes afectados. Entre el 10% y 20% de las mujeres con cáncer de mama tienen una pariente en primer o segundo grado afectada por este cáncer y el 50% manifiesta tener al menos un pariente. (Abeloff, 2002)

#### ***1.3.3.1 Alimentación***

La ingestión de grasas en la dieta se asocia a una mayor concentración plasmática de estrógenos. Una disminución del consumo de grasas disminuye la concentración plasmática de estradiol pocas semanas después de haber modificado la dieta. (Abeloff, 2002)

#### ***1.3.3.2 Consumo de alcohol***

Estudios recientes demuestran que el consumo de etanol puede aumentar la concentración de hormonas esteroideas sexuales en las mujeres pre-menopáusicas no alcohólicas. (Abeloff, 2002)

#### ***1.3.3.3 Anticonceptivos orales y tratamiento hormonal sustitutivo***

El riesgo de cáncer de mama asociado a los anticonceptivos y al tratamiento hormonal sustitutivo desaparece con el tiempo cuando se interrumpe el consumo. (Abeloff, 2002)

#### *1.3.3.4 Factores menstruales y reproductores*

El riesgo de CaM se ha relacionado de forma constante con la edad de la menarquia y la edad de la menopausia, sustituidas por el número de ciclos ováricos a lo largo de la vida. Otro factor de riesgo hormonales bien establecidos son la edad del primer parto antes de los 20 años se asocia a un riesgo de CaM con un 50% menos que cuando se tiene un hijo después de los 35 años. Finalmente la lactancia parece ser un efecto protector, posiblemente porque permite la diferenciación celular final en el epitelio de la mama. (Abeloff, 2002)

#### *1.3.3.5 Enfermedades benignas de la mama*

Las lesiones benignas de la mama como los papilomas, los fibroadenomas y las comúnmente denominadas alteraciones fibroquísticas, no son lesiones pre malignas y no se asocian a un mayor riesgo de cáncer de mama. Sin embargo, las anomalías proliferantes y fundamentalmente la hiperplasia canalicular y lobulillar confieren un riesgo relativo de 1.5 a 2; la hiperplasia atípica se asocia a un riesgo mayor de 3 y 5. (Abeloff, 2002)

### **1.3.4 DIAGNÓSTICO**

El examen de mama se debe realizar en posición vertical, sentada y acostada con las manos de la mujer detrás de la cabeza. Los senos deben ser inspeccionados en busca de diferencias en el tamaño, retracción de la piel o del pezón, patrones venosos prominentes y signos de inflamación. Se debe usar la superficie plana de la punta de los dedos para palpar el tejido mamario contra la pared torácica. Las zonas axilares y supraclaviculares deben ser revisadas en busca de nódulos. El pezón debe comprimirse suavemente para comprobar si hay secreciones. (MedlinePlus, 2009)

#### **1.3.4.1 Mamografía**

La extensión del uso de la mamografía ha sido eficaz, ya que ha reducido la tasa de mortalidad del CaM hasta un 30%. La mamografía es el mejor método de cribado de lesiones tempranas disponible. La tasa de supervivencia para las mujeres con CaM se incrementa drásticamente cuando se diagnostica en una etapa temprana, detectado precozmente tiene una sobrevivencia a los 10 años que alcanza hasta un 98%. Desafortunadamente, sólo el 60% de los cánceres se diagnostican en una fase localizada. De manera que la mamografía regular debe ir acompañada de un examen físico regular de mama para mejorar ese porcentaje. (MedlinePlus, 2009)

#### 1.3.4.2 Ecografía

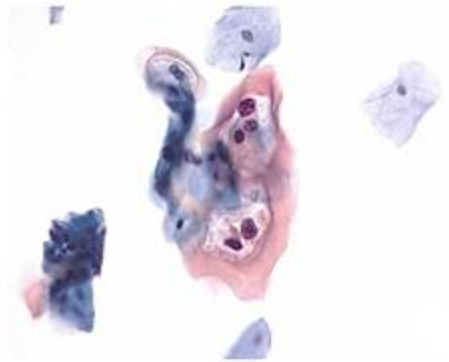
El pesquistaje por ultrasonido es útil para diferenciar entre masas o tumores mamarios sólidos y los quísticos, fundamentalmente cuando una masa palpable no es bien visualizada en una mamografía. La ecografía es especialmente útil en mujeres jóvenes con tejido mamario denso con una masa palpable que no se visualiza en una mamografía. (MedlinePlus, 2009)

#### 1.3.5 TRATAMIENTO

Tamoxifeno ha sido estudiado como quimiopreventivo para el cáncer de mama, en los estudios (*International Breast Cancer Intervention Study*) se observó una disminución significativa del riesgo de este cáncer con Tamoxifeno en un 62%. A lo largo del tiempo, la pauta ha consistido en mastectomía ipsilateral con biopsia contralateral (imagen en espejo), mastectomía bilateral o más recientemente biopsia y observación. (MedlinePlus, 2009) Se utilizan de forma estándar esquemas de poliquimioterapia tipo FEC (5-Fluorouracilo, Epirubicina y Ciclofosfamida), FAC (5-Fluorouracilo, Adriamicina y Ciclofosfamida) o CMF (Ciclofosfamida, Metotrexato, 5-Fluorouracilo). Las combinaciones TAC (Taxol, Adriamicina y Ciclofosfamida) y AT (Adriamicina y Taxol) son usadas de forma cada vez más amplia. Se han realizado numerosos estudios para comparar la eficacia de distintos esquemas y de la intensidad de dosis. (Biocáncer 1,2004)

### 1.4 CÁNCER CERVICAL

El **cáncer cervical** o carcinoma del cuello uterino (CaCu) incluye las neoplasias malignas que se desarrollan en la porción fibromuscular inferior del útero que se proyecta dentro de la vagina. Figura 9. El cáncer CaCu crece lentamente antes de que aparezcan células cancerosas en el cuello uterino, los tejidos normales del cuello uterino pasan por un proceso conocido como displasia durante el cual empiezan a aparecer células anormales. (issemym, 2011)



**Figura 9.** Carcinoma de cérvix



Actualmente el cribado citológico y el seguimiento mediante tinción de Papanicolaou (pap) para la detección de cepas oncógenas del virus del papiloma humano (VPH), colposcopia y una serie de técnicas confirmatorias mediante biopsias son capaces de diagnosticar la enfermedad pre-invasora o invasora en un estadio muy precoz, que puede tratarse con una elevada probabilidad de curación. (Abeloff, 2002)

#### **1.4.1 ANATOMÍA PATOLÓGICA**

El epitelio del cuello uterino está compuesto por células epiteliales planas que recubren el exocérnix y las glándulas y por células cilíndricas que recubren el endocérnix. El límite entre el epitelio plano y cilíndrico se denomina *unión escamocolumnar* y es la localización de la metaplasia epidermoide que se supone más vulnerable a la transformación neoplásica vírica. Al aumentar la edad, la unión escamocolumnar migra desde el exocérnix hacia el interior del conducto endocervical distal y la región entre la localización original y la nueva, se denomina zona de transformación. La zona de transformación es la localización más frecuente de los cánceres de cuello uterino precoces. Los tumores que se originan en el ectocérnix son habitualmente carcinomas epidermoides, mientras que los adenocarcinomas tienen su epicentro más a menudo en el endocérnix.

Aproximadamente el 75% de los CaCu invasores es epidermoide. Los adenocarcinomas comprenden un 15% a 25% de los carcinomas de cuello uterino invasores. Habitualmente se origina en el endocérnix, siendo más difíciles de detectar a la inspección visual del cuello uterino. (Abeloff, 2002)

#### **1.4.2 ESTADIFICACIÓN**

El CaCu se estadifica clínicamente basándose fundamentalmente en la inspección y palpación del cuello uterino, la vagina, los parametrios y las paredes laterales de la pelvis. El sistema de estadificación de la FIGO (*International Federation of Obstetrics and Gynaecology*), el cual consiste en la combinación de evaluaciones histopatológicas clínicas y radiológicas que reflejan el hecho de que el CaCu invasor es más prevalente en las zonas menos desarrolladas del globo en las que no se disponen ampliamente de pruebas de imagen sofisticadas y caras, permite la valoración mediante biopsias, exploración física, cistoscopia, urografía excretora (pielografía intravenosa o PIV) y radiografía simple de tórax y los huesos. Tabla 1. (Abeloff, 2002)

**Tabla 1.** Estadificación del cáncer cervical

TNM	FIGO	
<b>Tis</b>	Estadio 0	Carcinoma in situ, carcinoma intraepitelial
<b>T1</b>	Estadio I	Carcinoma confinado <i>estrictamente al cuello uterino</i> (no debe tomarse en cuenta la extensión hacia el cuerpo uterino)
<b>T1a</b>	Estadio IA	Carcinomas preclínicos del cuello uterino, diagnosticados sólo por microscopio
<b>T1a1</b>	Estadio IA1	Invasión del estroma <3mm a partir de la base del epitelio, ya sea superficial o glandular desde el cual se origina y no >7mm de ancho
<b>T1a2</b>	Estadio IA2	Invasión del estroma >3mm en profundidad pero no >5mm, y no debe exceder de 7 mm de ancho
<b>T1b</b>	Estadio IB	Lesiones preclínicas de mayor extensión que el IA o tumores clínicos limitados al cérvix
<b>T1b1</b>	Estadio IB1	Lesiones de 4 cm o menos
<b>T1b2</b>	Estadio IB2	Lesiones que miden más de 4 cm (en forma de barril o <i>bulky</i> )
<b>T2</b>	Estadio II	El carcinoma se extiende <i>más allá del cuello uterino</i> , pero sin alcanzar la pared pélvica. El carcinoma afecta la vagina, sin llegar al tercio inferior de ésta
<b>T2a</b>	Estadio MA	No hay afección parametrial. Pueden afectarse hasta 2/3 superiores de vagina
<b>T2b</b>	Estadio MB	Hay afección parametrial manifiesta, sin llegar a pared pélvica
<b>T3</b>	Estadio MI	El carcinoma se ha extendido <i>hasta la pared pélvica</i> (a la exploración rectal no se encuentra espacio libre de cáncer entre el tumor y la pared pélvica), el tumor abarca al <i>tercio inferior la vagina</i> , existe <i>hidronefrosis o insuficiencia renal</i>
<b>T3a</b>	Estadio IMA	No hay extensión hacia la pared pélvica, pero sí a 1/3 inferior de vagina
<b>T3b</b>	Estadio IIIB	Extensión hacia la pared pélvica, hidronefrosis o insuficiencia renal
<b>T4</b>	Estadio IV	El carcinoma se ha extendido <i>más allá de la pelvis verdadera</i> o afecta desde el punto de vista clínico a la mucosa de vejiga o recto. El edema buloso, como tal, no permite que un caso se incluya IV
<b>N1</b>	Estadio IVA	Extensión del crecimiento hacia los órganos adyacentes
<b>M1</b>	Estadio IVB	Extensión hasta órganos a distancia

### **1.4.3 FACTORES DE RIESGO**

- Mujeres mayores de 35 años con antecedentes familiares de tumores
- Mujeres multíparas (muchos hijos)
- La presencia del virus del papiloma humano (VPH)
- Inicio de una vida sexual antes de los 18 años
- Presencia de infecciones vaginales frecuentes
- Se les ha relacionado con el embarazo en la adolescencia, puesto que se trata del inicio de una vida sexual temprana (issemym, 2011)

### **1.4.4 DIAGNÓSTICO**

Las técnicas para la evaluación comprenden colposcopia, legrado o cepillado endocervical y conización cervical con bisturí en frío o técnicas de resección electrodiatérmica con asa (TREA).

### **1.4.5 TRATAMIENTO**

- Tratamiento quirúrgico (cirugía)
- Radiación
- Quimioterapia (cisplatino, 5-fluorouracil, Adriamicina, Carboplatino, Paclitaxel, y Vinblastina)
- Tratamiento psicológico (issemym, 2011)

## **1.5 CÁNCER DE PRÓSTATA**

El cáncer de próstata (CaP) es el segundo tipo de cáncer más común y la segunda causa principal de muerte por enfermedades crónico-degenerativas en hombres en la República Mexicana. Se denomina CaP al que se desarrolla en uno de los órganos glandulares del sistema reproductor masculino llamado próstata. El cáncer se produce cuando algunas células prostáticas mutan y comienzan a multiplicarse descontroladamente. Éstas también podrían propagarse desde la próstata a otras partes del cuerpo, especialmente los huesos y los ganglios linfáticos originando una metástasis.

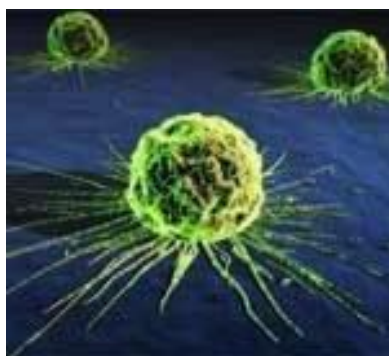
La edad, el antecedente familiar, la dieta, el estilo de vida y la etnia son factores de riesgo para la aparición del cáncer de próstata. En los últimos dos decenios, los abordajes terapéuticos de los varones con CaP han cambiado espectacularmente, con una mejora de los tratamientos establecidos para el CaP y la introducción de nuevos métodos terapéuticos. (Abeloff, 2002)

### 1.5.1 ANATOMÍA Y FUNCIÓN DE LA PRÓSTATA

La próstata es una glándula accesoria sexual del varón que rodea la uretra y contribuye con secreciones al eyaculado. Localizada en la pelvis, la próstata se asienta junto a la vejiga y el recto, está rodeada incompletamente por una cápsula fina compuesta de colágeno, elastina y musculo liso, y en su vértice forma parte del aparato de esfínter uretral. El parénquima prostático se ha dividido en tres zonas que pueden verse mediante ecografía transrectal (ECTR) y que reconocen fácilmente los anatomopatólogos quirúrgicos al analizar muestras de prostatectomía radical: Una zona central, rodeando los conductos eyaculadores, que forman en 25% de la próstata; una zona de transición cerca de la uretra prostática, que supone normalmente el 10% del tejido prostático y una zona periférica que es el mayor volumen del tejido prostático, que engloba la región posterolateral de la próstata.

Además de producir cáncer, la próstata también manifiesta con frecuencia un aumento de tamaño benigno (hiperplasia prostática benigna o HPB) y una inflamación crónica o recurrente (prostatitis). Como el CaP, cada uno de estos trastornos puede elevar el PSA (antígeno específico de la próstata) sérico en el cribado del CaP. La próstata requiere de hormonas Andrógenas y un receptor para andrógenos intacto para un crecimiento y desarrollo normales.

Las células del CaP y las células de la NIP (Neoplasia Intraepitelial Prostática) surgen del epitelio prostático. Figura 10. Los CaP reminiscentes de las células epiteliales basales son excepcionalmente raros; los CaP con características de células neuroendocrinas son algo más frecuentes.



**Figura 10.** Antígeno prostático

## 1.5.2 ESTADIFICACIÓN

**Sistema de estadificación AUA** (*American Urological Association*)

### **Estadío A Enfermedad que no se sospecha por la clínica**

- A1** Carcinoma focal bien diferenciado
- A2** Carcinoma difuso, habitualmente poco diferenciado

### **Estadío B Tumor limitado a la glándula prostática**

- B1** Nódulo pequeño y bien delimitado en un lóbulo de la glándula
- B2** Nódulo grande o múltiples nódulos o áreas de afección

### **Estadío C Tumor localizado en el área periprostática.**

- C1** Tumor fuera de la capsula prostática sin afección a vesícula seminal
- C2** Tumor fuera de la capsula prostática con afección a vesícula seminal

### **Estadío D Cáncer de próstata metastásico**

- D1** Metástasis linfática pélvica
- D2** Metástasis en hueso, órgano o ganglios linfáticos diferentes

El CaP raramente produce síntomas precozmente en la evolución de la enfermedad, porque la mayoría de los adenocarcinomas surgen en la periferia de la glándula, lejos de la uretra. La presencia de síntomas atribuibles al cáncer de próstata indica una enfermedad avanzada a nivel local o metastásico. En más del 90% de los varones con cáncer de próstata se llega a diagnosticar mediante un tacto rectal (TR) anormal o una prueba sanguínea llamada antígeno prostático (PSA).

## 1.5.3 FACTORES DE RIESGO

**Edad:** Tener 50 años de edad o más, incrementa la probabilidad de contraer cáncer de próstata.

**Raza:** El cáncer de próstata es más común en hombres Afro- Americanos.

**Historia familiar:** Si se tiene familiares muy cercanos como papá o hermanos con este padecimiento, es muy probable que se pueda desarrollar.

**Dieta:** Ingerir comidas altas en grasas con poco consumo de frutas y vegetales puede incrementar la probabilidad de contraer cáncer de próstata.

#### **1.5.4 DIAGNÓSTICO**

Hay una prueba sanguínea llamada antígeno prostático (PSA, por sus siglas en inglés). Este antígeno está presente en la sangre en pequeñas cantidades y la presencia de cáncer aumenta su dosificación. Cuando el antígeno está alto, se complementa con otros exámenes, como el tacto rectal y la biopsia, para concluir el diagnóstico. La dosificación de antígeno sirve también para saber cuál es el nivel de desarrollo del cáncer y si los tratamientos están funcionando. Si la terapia no es efectiva, los niveles del antígeno continuarán elevados o se incrementarán. También la realización del tacto rectal puede facilitar el diagnóstico precoz.

El sistema de estadificación del cáncer de próstata comprende los resultados radiológicos de la próstata [Ecografía transrectal o resonancia magnética (RM)] para asignar el estadio.

#### **1.5.5 TRATAMIENTO**

En los últimos dos décadas la cirugía y la radioterapia han mejorado consiguiendo un control local eficaz del cáncer en la próstata mientras se reduce la posibilidad de efectos adversos. Los pacientes con CaP localizado disponen de varias opciones terapéuticas, la prostatectomía radical, la braquiterapia intersticial y la radioterapia con haz externo. Para guiar el tratamiento suele considerarse la edad, la esperanza de vida y los antecedentes médicos, así como los factores pronósticos del CaP como el estadio.

Para tratar el cáncer de próstata avanzado también se están utilizando los fármacos Lupron o Zoladex, los cuales bloquean la producción de testosterona. (Medline Plus. 2009)

La quimioterapia se utiliza con frecuencia para tratar los síntomas de cáncer de próstata que son resistentes a tratamientos hormonales. Por lo general, el oncólogo especializado recomienda un solo fármaco o una combinación de fármacos. Los medicamentos de quimioterapia que pueden utilizarse para tratar el cáncer prostático abarcan:

- \* Adriamicina
- \* Docetaxel
- \* Estramustina
- \* Mitoxantrona
- \* Paclitaxel
- \* Prednisona

Los Antiandrógenos bloquean el receptor de andrógenos impidiendo la unión del ligando natural, disminuyendo drásticamente la estimulación hormonal y por tanto la proliferación tumoral. La combinación de la supresión de la fuente de andrógenos natural (ablación) y el bloqueo a nivel receptorial de los andrógenos originados en otras vías mediante antiandrógenos se denomina Bloqueo Androgénico Completo (BAC). (Biocáncer, 2004)

Debido a que la terapia hormonal no es curativa y sólo controla el cáncer prostático metastásico durante un tiempo, se está trabajando para descubrir una terapia sistémica más efectiva. En tiempo reciente, varios medicamentos quimioterapéuticos han demostrado la capacidad de eliminar a las células cancerosas en los pacientes con cáncer recurrente. La evolución y la exploración de agentes quimioterapéuticos individuales, o combinados como un enfoque de tratamiento para los pacientes con cáncer prostático metastásico, constituyen un área de activa investigación. En particular, se evalúan los medicamentos de quimioterapia Novantrone®, Taxotere®, paclitaxel, estramustina y mitoxantrona, que en combinación con corticoides (prednisona) han demostrado tener eficacia en la paliación del cáncer de próstata independiente de andrógenos, en pacientes con un diagnóstico de cáncer prostático metastásico. (ConexiónCáncer. 2012)

## **2. FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS**

Los antineoplásicos útiles en clínica poseen mayor citotoxicidad contra los tejidos cancerosos que contra las células normales del sujeto que sufre cáncer. De este modo, se dice que muestra toxicidad selectiva, fenómeno que es posible por las diferencias metabólicas entre las células malignas y las normales. Casi todas las diferencias cuantitativas entre las células normales y las cancerosas dependen de vías bioquímicas, procesos de transporte y mecanismos de reparación de ADN. Por ejemplo, algunos fármacos anticancerosos dañan con mayor facilidad la síntesis de grandes macromoléculas, entre ellas el ADN y ARN en algunas células alteradas que en células normales. Además puede haber diferencias en la capacidad de las células normales y las cancerosas para reparar las lesiones de estas moléculas de importancia crítica. (Bevan, 1982)

La terapéutica en el cáncer tiene como “blanco” variable y fluctuante. Uno de los principales factores que influyen en la respuesta de un cáncer a la farmacoterapia es la fracción de células tumorales que están en el ciclo de réplica. De este modo el ciclo celular de un tumor dado y la cinética de proliferación de una población de células tumorales son factores que deben considerarse en la evaluación de la toxicidad selectiva. (Bevan, 1982)

## **2.1 Actividad de los medicamentos en distintas fases del ciclo celular**

Cuando la neoplasia es pequeña y crece rápidamente, en un momento dado una proporción relativamente grande de sus células sintetizan ADN (en fase S) y es precisamente el punto de la evaluación intrínseca del cáncer, que el análogo de modo lógico, debe combatir con fármacos eficaces para tal punto del ciclo de las células en división rápida. A diferencia de ello, en el tumor avanzado, en que la fracción de proliferación es muy pequeña y el tamaño aumenta con lentitud, puede haber una mejor respuesta a un fármaco sin especificidad de fase.

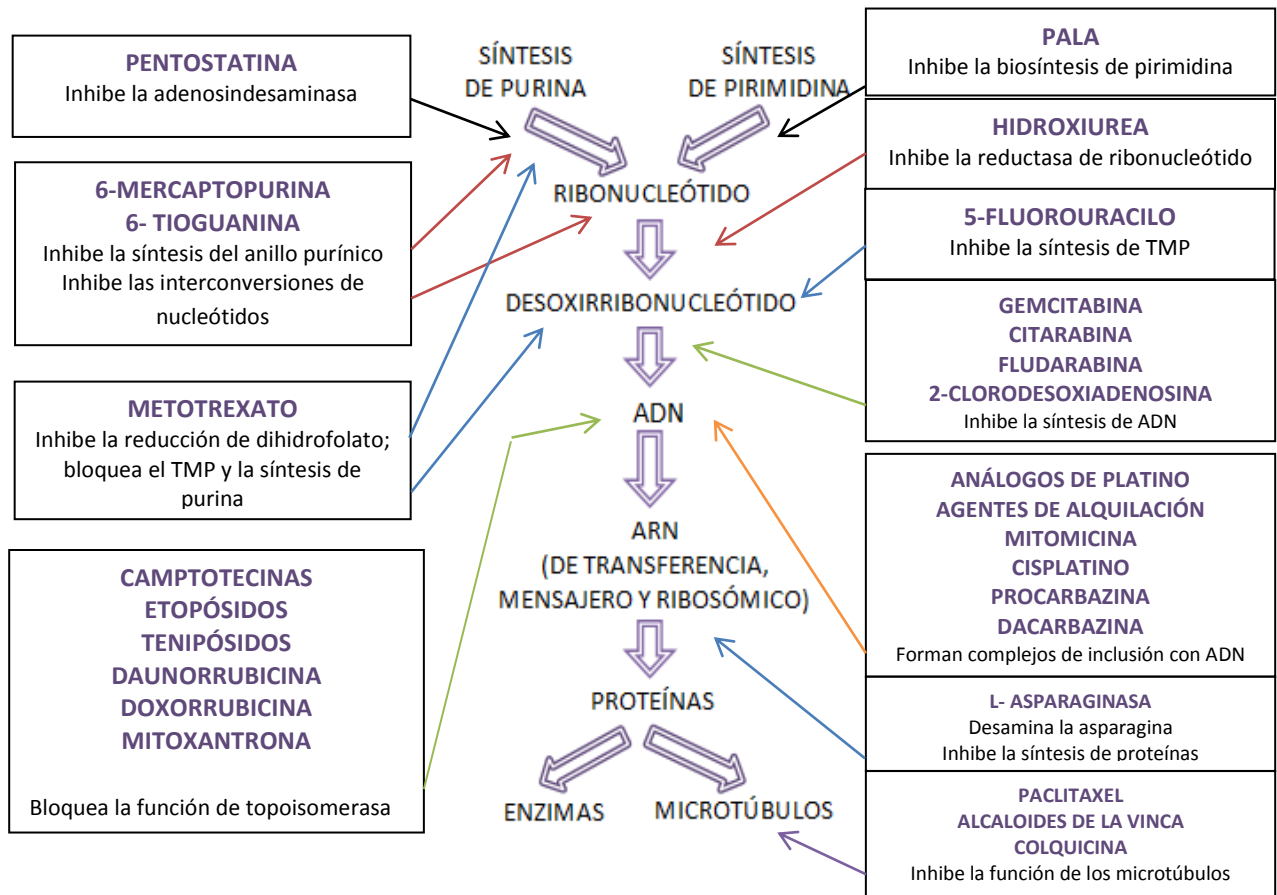
## **2.2 Mecanismo de acción de los antineoplásicos**

La mayor parte de los antineoplásicos al parecer actúan al alterar enzimas a los sustratos en que ellas actúan. Por lo regular, los efectos en enzimas o sustratos guardan relación con la síntesis o función de ADN y en consecuencia, estos fármacos al parecer ejercen sus principales efectos tóxicos y antitumorales al inhibir células que están en fase de síntesis de ADN en algún momento de su ciclo. Los fármacos que actúan fundamentalmente al inhibir las enzimas que participan en la síntesis de ácido nucleico, reciben el nombre de antimetabolitos. (Bevan, 1982)

En el pasado, los fármacos antineoplásicos se identificaban mediante una detección a gran escala de sustancias químicas sintéticas y productos naturales contra sistemas tumorales en animales, en particular las leucemias murinas (ratón). Los agentes descubiertos en los primeros 20 años de quimioterapia oncológica (1950 a 1970) interactuaban en gran medida con ADN y sus precursores, e inhibían la síntesis de nuevo material genético o causaban daño irreparable al propio ADN.

En la Figura 11, se muestra una revisión general de tales agentes. En años recientes, la identificación de nuevos fármacos se ha ampliado desde el área de los productos naturales más comunes (p. ej. Paclitaxel y sustancias semisintéticas como el etopósido, dirigidas contra procesos proliferativos) hasta campos totalmente nuevos de investigación que representan la obtención de nuevos conocimientos sobre biología oncológica. (Chabner, 1991)





**Figura 11.** Mecanismo y sitios de acción de quimioterapéuticos útiles contra enfermedades neoplásicas

Los fármacos antineoplásicos presentan diferentes mecanismos de acción sobre las células tumorales. Un mismo fármaco puede tener más de un modo de acción, aunque habitualmente predomina uno de ellos. Los principales mecanismo de acción son:

1. La inhibición de moléculas complejas (ADN, ARN) mediante la introducción de falsos metabolitos o inhibición enzimática
2. Creación de reacciones de alquilación (Agentes alquilantes)
3. Intercalación de moléculas en el ADN y unión a las topoisomerasas I y II
4. Alteración de funcionamiento del huso mitótico
5. Inhibición de la función de proteínas y aminoácidos
6. Creación de radicales libres
7. Utilización de radiaciones ionizantes
8. Antagonismo receptorial
9. Efecto antiangiogénico
10. Modificaciones de la respuesta biológica: interferones, interleucinas. (Velázquez, 1997)

### 2.3 Resistencia a la acción de los fármacos

Otro factor que suele limitar la actividad clínica de un agente quimioterápico es la aparición de una línea o cepa de células malignas resistentes a la acción del fármaco. Es experiencia clínica frecuente la obtención de buenos resultados cuando se administra por primera vez un fármaco particular en un paciente con cáncer y que la administración ulterior origina resultados cada vez menos satisfactorios hasta que deje de surgir efecto beneficioso con dicho fármaco. (Bevan, 1982)

En la resistencia hacia la acción de un fármaco tal vez participen diversos mecanismos celulares: Alteración del metabolismo farmacológico (mayor desactivación, disminución o pérdida del proceso esencial de activación); impermeabilidad de la célula al compuesto activo; alteración en la especificidad de una enzima inhibida mayor producción de una molécula “blanco”; reparación de lesiones citotóxicas y en algunos casos, otras vías bioquímicas que “esquiven” la ruta de la reacción inhibida. Obviamente existe analogía entre la aparición de resistencia a fármacos en la oncoterapia y la aparición de especies bacterianas resistentes a antibióticos en el curso de una infección. (Bevan, 1982)

### 3. ANTINEOPLÁSICOS (QUÍMICOS)

Los **antineoplásicos** son sustancias que impiden el desarrollo, crecimiento o proliferación de células tumorales malignas. Estas sustancias pueden ser de origen natural, sintético o semisintético. Según el mecanismo de acción se clasifican básicamente en dos tipos, aquellos que actúan contra la célula tumoral en un determinado ciclo de la división celular denominados *ciclo-específicos* y aquellos *ciclo-inespecífico* que afectan a la célula durante todo su ciclo de desarrollo. Según la clasificación que propone Martínez (2002) (Tabla 2.)

Los fármacos antineoplásicos podrían clasificarse con base a su función dentro de la célula en:

- 1.- Antineoplásicos que actúan sobre el ADN.** Afectan a la integridad de las cadenas de ácidos nucleicos, fundamentalmente al ADN, impidiendo la replicación celular normal.
- 2.- Antineoplásicos hormonales.** Es un amplio grupo de fármacos que actúan sobre tumores cuyo crecimiento depende del estímulo hormonal.
- 3.- Antineoplásicos que actúan sobre el sistema inmunitario.** Los fármacos de este grupo potencian la acción del sistema inmunitario, ya que este es capaz de reconocer y destruir las células.
- 4.- Antineoplásicos que actúan sobre la cinética celular.** Actúan interfiriendo en el proceso de la mitosis y por tanto, impiden la reproducción celular.

**Tabla 2.** Ejemplos de algunos fármacos antineoplásicos (Martínez, 2002)

GRUPO DE ANTINEOPLÁSICOS	FÁRMACOS
Antineoplásicos que actúan sobre el ADN	Alquilantes: Ciclofosfamida, Clorambucilo, Ifosfamida, Melfalán, Altretamina, Decarbazina, etc.
	Complejos de platino: Cisplatino y Carboplatino
	Antimetabolitos: Citarabina, Metotrexato, Mercaptopurina, Fluorouracilo
Antineoplásicos hormonales	Antagonistas de estrógenos: Tamoxifeno, Toremifero, Aminoglutetimida
	Antagonistas de andrógenos: Fosfestrol
	Progestágenos: Gestonorona, Megestrol
	Análogos de LH-RN: Buserelina, Goserelina, Leuprorelina
Antineoplásicos que actúan sobre el sistema inmunitario	Aldesleukina
Antineoplásicos que actúan sobre la cinética celular	Antibióticos citostáticos: Daunorubicina, Mitoxantrona, Bleomicina, Mitomicina, entre otros.
	Inhibidores de la mitosis: Vinblastina, Vincristina, Docetaxel, Paclitaxel, entre otros.

Otra clasificación para los antineoplásicos es aquella que se establece de acuerdo con la actividad que ejercen sobre la cinética celular:

- 1. Agentes fase específicos (ciclo dependientes y fase dependientes):** Son fármacos que actúan sobre una fase concreta del ciclo celular.
- 2. Agentes ciclo específicos pero fase inespecíficos (ciclo dependientes y fase independientes):** Son fármacos que destruyen las células que están dentro del ciclo celular. Independientemente de la fase en que se encuentren.
- 3. Agentes ciclo inespecíficos y fase inespecíficos:** Son inefectivos tanto para células en fase de división como en la fase de reposo (Kuklinsk, 2000)

### **3.1 Efectos secundarios de los antineoplásicos**

El cáncer se caracteriza por la existencia de células que han sufrido una alteración en los mecanismos de control que regulan su capacidad de diferenciación y proliferación. El tratamiento del tumor se puede realizar mediante métodos quirúrgicos, radioterapia o fármacos antineoplásicos o citostáticos.

En general, los citostáticos son más tóxicos para las células tumorales que para las normales, por ser más activos sobre células en fase de reproducción. Una de las principales características de los tumores malignos es su continua división celular sin fases de reposo, lo que los hace muy sensibles a los citostáticos. Sin embargo, algunas células normales como las de la médula ósea, las de la mucosa del aparato digestivo o las células de los folículos pilosos se dividen también con relativa rapidez, por lo que son más sensibles a los citostáticos.

El principal problema de estos fármacos es su elevada toxicidad debido a la incapacidad para diferenciar las células tumorales de las células sanas. Es muy frecuente administrar 2 ó 3 citostáticos juntos. Estas asociaciones tienen la ventaja de que se pueden reducir la resistencia de las células tumorales a los citostáticos y se puede ampliar la potencia al emplear fármacos con diferente mecanismo de acción. El inconveniente es que se pueden sumar los efectos tóxicos. Para evitarlo se procura asociar citostáticos con distinta toxicidad.

La mayoría se administran por vía intravenosa y debido a que son muy tóxicos es necesario ajustar la dosis con la mayor precisión posible. Se ajusta por la superficie corporal que deriva del peso y talla. Se administran normalmente en ciclos con períodos de descanso. Con estos periodos de descanso se intenta que las células normales, por ejemplo las de la médula ósea, se recuperen del efecto tóxico del citostático mientras que las tumorales se recuperan en menor cuantía. De esta forma y repitiendo los ciclos se pretende reducir progresivamente el número de células tumorales hasta conseguir su erradicación completamente mientras que las células normales se mantienen al recuperarse después de cada ciclo.

#### **3.1.1 Depresión de la médula ósea**

Es uno de los más comunes y graves de muchos citostáticos. Aparecen precozmente a los pocos días de tratamiento y es global (hay anemia, leucopenia y trombopenia).

### **3.1.2 Afectación de las mucosas del aparato digestivo**

Aunque se puede producir en cualquier zona, lo más frecuente es una intensa inflamación de la mucosa bucofaríngea (estomatitis o mucositis). Cuando se afecta la mucosa yeyunal puede haber diarrea y hemorragia digestiva.

### **3.1.3 Afectación de los folículos pilosos**

Es frecuente la alopecia total que generalmente se resuelve al finalizar el tratamiento.

### **3.1.4 Alteración de las gónadas**

En las mujeres es frecuente la amenorrea durante la administración de citostáticos pero habitualmente se recuperan los ciclos al interrumpir el tratamiento. En varones puede producir [oligoespermia] y en algunos casos [esterilidad] permanente. Los citostáticos pueden inducir malformaciones u otras enfermedades congénitas, por eso durante el tratamiento y hasta 6 meses después se debe evitar tener descendencia.

## **4. PRODUCTOS NATURALES**

Los productos naturales han sido la fuente más productiva de los clientes potenciales que se dedican al desarrollo de fármacos. Más de 100 nuevos productos se encuentran en desarrollo clínico, en particular como antiinfecciosos y anticancerígenos.

Los productos naturales han sido el origen de la mayoría del principio activo de los medicamentos. Más de las sustancias de las drogas eran productos naturales o inspirados en el compuesto natural. Las comparaciones de la información presentada en las fuentes de nuevos medicamentos entre 1981 y 2007 indican que casi la mitad de los fármacos aprobados desde 1994 se basan en productos naturales. (Harvery, 2008)

### **4.1 Mecanismos generales de acción de antineoplásicos naturales**

- a) **Inhibidores de la mitosis.** Ejercen su acción citotóxica porque, tras unirse a la tubulina, inhiben la mitosis. La acción en los microtúbulos varía; puede inhibir su formación (alcaloides de la vinca) o, por el contrario, incrementarla y estabilizarla haciéndola poco funcional (taxanos). Son activos en una determinada fase del ciclo celular, provocando su cese en metafase.
- b) **Inhibidores de topoisomerasas.** El alcaloide de origen natural y sus análogos Topotecán e Irinotecán inhiben la Topoisomerasa I. La II es inhibida por los derivados de la Podofilotoxina (Etopósidos y Tenipósido) y por antibióticos Antraciclínicos.

- c) **Antibióticos.** Son de origen y estructura muy diversos y su mecanismo de acción también puede ser muy diferente; intercalarse entre cadenas de ADN, inhibir Topoisomerasa y alterar la membrana celular. La mayoría no son específicos del ciclo celular.
- d) **Enzimas.** La L- asparaginasa rompe el aminoácido asparagina, privando de su actividad a la célula que no es capaz de sintetizarlo. (Flórez,1997)

## 5.0 PROPÓLEO

El Propóleo es una resina cérea, de composición compleja y consistencia viscosa, que las abejas elaboran a partir de partículas resinosas de diferentes vegetales y que utilizan en la construcción, reparación y protección de la colmena. Ampliamente utilizado desde la antigüedad con diversas finalidades. Actualmente se investigan las acciones, efectos y posibles usos del Propóleo en biología y medicina, destacando su utilización como suplemento dietético y en la industria farmacéutica. (Maribel Saiz, 2000)

Se da el nombre de Propóleo, en griego significa *defensor de la ciudad*, entendida ésta como sinónimo de colmena, que las abejas elaboran y utilizan en la construcción, reparación, aislamiento y protección de la colmena. (Burdock, 1998)

Las abejas (*Apis mellifera*) recogen con sus mandíbulas, partículas resinosas de las yemas, brotes y pecíolos de las hojas de diferentes vegetales (olmo, álamo, sauce, abedul, castaño de Indias, pino, abeto, roble y algunas herbáceas) que, una vez en la colmena, mezclan con cera y secreciones salivares para obtener el propóleo. Gracias a su contenido en aceites esenciales, el propóleo suele ser aromático y en función de su origen botánico y de la época de recolección, difiere en color (de amarillo claro a castaño oscuro), sabor (amargo, ligeramente picante o insípido). (Krell, 1996)

### 5.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL PROPÓLEO

Se han aislado más de 180 compuestos del propóleo. Sus principales componentes son resinas y bálsamos que contienen flavonoides y ácidos fenólicos o sus ésteres (50%); contenidos muy variables de ceras (7.5-35%) que afectarán a los correspondientes restantes componentes; aceites volátiles (10%); polen (5%) e impurezas (4.4-19.5%). (Tabla 3.) Además contienen pequeñas cantidades de terpenos, taninos, restos de la secreción de las glándulas salivares de las abejas y posibles contaminantes. Los compuestos activos son los flavonoides que incluyen flavonas, flavonoles, flavononas y flavonoles. (Krell, 1996, Durk, 1997)

**Tabla 3.** Composición Química del Propóleo (promedio %)

COMPOSICIÓN	(%)	COMPUESTOS CARACTERÍSTICAS Y OBSERVACIONES
<b>Resinas</b>	44-55	Flavonoides, ácidos fenólicos y ésteres
<b>ceras</b>	7.55 - 35	Mayoría cera de abeja, también de origen vegetal
<b>Aceites esenciales</b>	5 - 10	Volátiles
<b>Ácidos grasos</b>	5	La mayoría procede de la cera y el resto depende del origen botánico
<b>Polen</b>	5	Proteína de polen y aminoácidos libres. Predominan arginina y prolina.
<b>Otros compuestos orgánicos y minerales</b>	5	14 oligoelementos Fe y Zn son los más abundantes, otros: Au, Ag, Cs, Hg, K, Sb Cetonas Lactonas Quinonas Esteroides Acido benzoico y ésteres Vitaminas: B1, B2, B3, B6. Pequeñas cantidades procedentes principalmente del polen Azucares

## 5.2 PROPIEDADES Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL PROPÓLEO

El propóleo es un producto de extraordinario interés para la medicina e industria farmacéutica, al que se atribuyen efectos antiinflamatorios, inmunoestimulantes, hepatoprotectores, carcinoestáticos, antimicrobianos, antivirales, antifúngicos, antiprotozoarios, anestésicos y de regeneración tisular (Bankova, 2000; Scheller, 1999). Los flavonoides (quercetina, apigenina, galangina, entre otros.) y los ácidos fenólicos (Caféico, Isoferúlico, Cinámico y Benzoico) (Arvouet-Grand, 1994), además de ser tóxicos para las levaduras, inhiben la actividad enzimática de la hialuronidasa y el ácido caféico y la actividad de la dihidrofolatoreductasa, lo que podrían explicar la similitud entre algunos de sus efectos y los de algunos antiinflamatorios no esteroideos.

El propóleo es una fuente natural de antioxidantes, que protegen a los aceites y lipoproteínas séricas de la oxidación (Isla M, 2001). Sus propiedades antioxidantes se deben a su actividad antiradicalaria (radicales alcoxi y en menor grado superóxido) y al efecto inhibitor sobre el ión cuproso, iniciador de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad. En los propóleo brasileño y chino, los extractos acuosos muestran mayor actividad antiradicalaria que los metanólicos y lo contrario ocurre con los de origen holandés o peruano. (Banskota, 2000)

El propóleo ejerce efectos antioxidantes en el colon, disminuyendo la concentración de hidroxidrogenasas lipídicas y como algunos de sus componentes se absorben y pasan a la circulación, actúan como antioxidantes hidrofílicos y aumentan la concentración tisular de vitamina C39. En pacientes con episodios isquémicos el propóleo parece reducir el riesgo de accidentes cerebrovasculares. (Samoliuk, 1995)

### 5.3 ESTUDIOS REALIZADOS CON EL PROPÓLEO

Scheller y cols. (1989) estudiaron el efecto antitumoral de un extracto etanólico de propóleo (EEP) en carcinoma de Ehrlich en ratones. Se compara la supervivencia con Bleomicina, resultando que la supervivencia es mayor en ratones tratados con EEP que los tratados con Bleomicina, mientras que los tratados con ambos compuestos (EEP + bleomicina) se acortaba la supervivencia con respecto al grupo control, concluyendo que mientras la actividad “*in vivo*” de Bleomicina es reducida en presencia de inhibidores de la citocromo C-reductasa (como algunos de los componentes de EEP), la propiedad antitumoral de EEP en un modelo animal estudiado es significativa y duradera.

Con el fin de investigar los posibles mecanismos de la acción terapéutica del propóleo, se estudia los efectos de los componentes de este: **CAPE**, ácido caféico (CA), Quercitina y Naringenina, así como otros compuestos sintéticos tales como: Indometacina (IM) y el ácido Nordihidroguairético (NDGA), siendo el **CAPE** de todos estos compuestos examinados, el mayor potente modulador de la cascada del Ácido Araquidónico.

Matsuno y cols. (1995) aislaron un principio activo del propóleo procedente de Brasil y es caracterizado como un nuevo diterpenoideclerodane (PMS-1). Este compuesto a concentración de 10 mg/ml inhibe el crecimiento de carcinoma hepatocelular humano (células HuH 13), revelando por citometría de flujo que arrastra a las células tumorales a la fase S. Este componente también ejercía citotoxicidad sobre carcinoma de pulmón humano y sarcoma de cérvix (**HeLa**), mostrando sin embargo menos efectividad sobre células renales. Cuando se estudia este mismo componente sobre tumorigénesis de piel y el desarrollo de tumores de piel inducidos químicamente (7,12-dimetilbenzantraceno) y aplicados en ratones, resulta que PMS-1 reduce la incidencia de tumores de piel, así como su crecimiento por la inhibición de la síntesis de ADN.



Rao y cols. (1995) Tras haber establecido, en diversos estudios previos, que los **Ésteres del Ácido Caféico** del propóleo inhiben el crecimiento tumoral, tanto en células de adenocarcinoma colónico humano como en lesiones precancerosas inducidas en colon de rata, se estudió el posible efecto sobre la carcinogénesis inducida por azoximetano subcutáneo en la mucosa colónica de ratas macho. Los investigadores observaron que el metilcafeato inhibe de forma significativa la incidencia y la multiplicidad, invasiva y no invasiva, de los adenocarcinomas de colon, disminuyendo, casi a la mitad respecto a los controles, la actividad de la mucosa colónica, la producción de ácido araquidónico y el volumen del tumor.

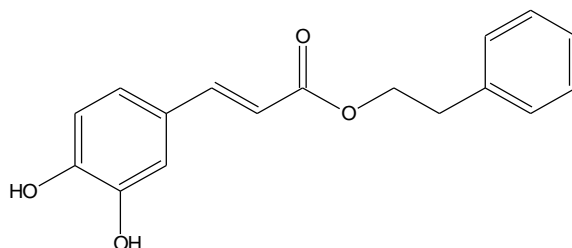
Usia y cols. (2002) reportaron la actividad anti-proliferativa de varios compuestos derivados del extracto metanólico de un propóleo de origen Chino en 5 líneas celulares cancerígenas; B16-BL6 (melanoma de ratón), HT-1080 (fibrosarcoma de humano), A-549 (carcinoma de pulmón de humano), **HeLa** (adenocarcinoma de cérvix de humano) y 26-L5 (carcinoma de colon de ratón). Los resultados mostraron que la mayoría de los compuestos estudiados poseen una importante actividad anti-proliferativa en las líneas celulares mencionadas, entre estos se encuentran: **bencil y fenetilcafeatos**, flavonoides como Galangina y Apigenina. (Banskota, A. 2001)

Bazo y cols. (2002) sugirieron que el propóleo ejercía un efecto protector en la carcinogénesis colónica, evitando el desarrollo de las lesiones preneoplásicas, ya que una dosis de 30 mg/Kg de extracto etanólico, administrada tras la exposición a un agente cancerígeno (1,2 dimetilhidrazina) se asoció de forma significativa a una disminución del número de criptas aberrantes en el colon distal.

Por otro lado, también se ha demostrado que el propóleo coreano, induce apoptosis en líneas celulares de hepatoma humano (Choi, 1999), que el extracto etanólico de propóleo es un buen inhibidor de la mutagenicidad (Jeng, 2000) y que el extracto metanólico presenta citotoxicidad frente al carcinoma colónicomurino 26-L5 y al fibrosarcoma humano HT-108036. Además, varios de sus componentes aislados han mostrado actividad anticancerígena, asociada a la inhibición del ciclo celular y la inducción de la apoptosis, como en el caso del ácido 3-(2-(2-dimetil 8,3-metil 2 butenil) benzopirano 6-propenoico (Luo, 2001) o induciendo la apoptosis sin afectar al ciclo celular de las células cancerosas, como la prenilflavanonapropolina A, que también muestra actividad antioxidante.

## 6.0 ESTER FENÉTILICO DE ÁCIDO CAFÉICO (CAPE)

El Ester Fenético de Ácido Cafético (CAPE), es un componente del propóleo, que se encuentra en forma de polvo blancuzco, su fórmula molecular es  $C_{17}H_{16}O_4$  con un peso molecular de 284.31 Figura 12.



**Figura 12.** Estructura química del CAPE

Al CAPE se le han atribuido prácticamente las mismas propiedades que al propóleo, incluyendo la acción antitumoral. Existen numerosas referencias acerca de estas propiedades, las cuales se mencionan a continuación:

### 6.1 ESTUDIOS REALIZADOS CON CAPE

Su y cols. (1991) investigaron el efecto tóxico diferencial de CAPE, encontraron que éste es citotóxico al tumor y no a las células normales, estudiando la transformación de fibroblastos embrionarios (CREF) mediante adenovirus tipo 5 (Ad5); el genoma de este adenovirus proporcionó una importante herramienta para estudiar la función de la supresión tumoral. Los resultados que se obtuvieron indicaron que la sensibilidad adquirida de CREF a CAPE pudo ser debida a la transcripción en dichas células transformadas por el adenovirus de una proteína de 289 aminoácidos (sola o conjuntamente con otra proteína de 243 aminoácidos).

Frenkel y cols. (1993) en USA, indujeron carcinogénesis química con 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato e intentaron establecer si CAPE inhibía la promoción del tumor. Para ello, aplicaron tratamientos tópicos de CAPE en ratones a bajas dosis que inhibieron fuertemente el proceso oxidativo mediado por TPA que es considerado esencial para la promoción del tumor. A una concentración de 0.5 nmol de CAPE suprimió la explosión metabólica oxidativa de los leucocitos polimorfonucleares en un 50%. A altas dosis, CAPE inhibió la actividad enzimática de ornitina descarboxilasa (ODC). Esto demostró que CAPE es un potente agente quimopreventivo, pudiendo ser usado también en enfermedades que cursen con componentes de estrés oxidativo como varios tipos de cáncer.

Su y cols. (1994) completando el estudio de 1991, encontraron que la acción de CAPE no suprime el crecimiento de las células transformadas como simple expresión génica de Ad5 E1A (gen transformador del adenovirus) sino que la sensibilidad al CAPE está directamente determinada por el grado de expresión fenotípica. Estos resultados aportaron una evidencia adicional que CAPE puede representar un compuesto único que puede fijarse específicamente en células en transformación o transformadas suprimiendo el crecimiento tumoral.

Su y cols. (1995) estudiaron mediante transformaciones de CREF por oncogenes, el mecanismo fundamental por el cual se incrementa la sensibilidad de las células transformadas al CAPE, resultando que existe una relación directa entre los efectos citotóxicos de CAPE y la inducción a la fragmentación del ADN y apoptosis (la apoptosis en las células tumorales es fundamental, ya que una interrupción en las rutas apoptóticas es el principal factor en el proceso de tumorigénesis, mientras que la inducción de la apoptosis es importante para la supresión tumoral y por tanto en la terapia oncológica).

Natarajan K. y cols. (1996) mostraron que la activación de NF –  $\kappa$ B en células U937 por factor de necrosis tumoral (TNF) es completamente bloqueada por el CAPE en una dosis tiempo-dependiente, esto demuestra que el CAPE es un potente inhibidor específico de la activación de NF –  $\kappa$ B en células U937, por lo que ha sido ampliamente estudiada con el fin de explicar los mecanismos de inflamación e inmunomodulación que ejerce el CAPE en varios modelos.

Chiao y cols. (1995) demostraron que CAPE indujo apoptosis y esta toxicidad es influenciada por el estado redox de las células. CAPE pudo modular el estado redox de las células. La sensibilidad de las células a CAPE pudo ser determinada por la pérdida de la regulación del estado redox normal en las células transformadas. CAPE inhibió 5-lipooxigenasa en el rango de concentración micromolar. Esta inhibición es de tipo no competitivo, dependiente de la dosis y reversible. CAPE también posee propiedades antioxidantes, bloqueando completamente la producción de especies de oxígeno reactivo en neutrófilos humanos y el sistema xantina-xantina oxidasa.

Mou-Tuan Huang y cols. (1996) en USA determinaron el efecto inhibitorio del CAPE en la promoción tumoral inducida por 12-*O*-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) en ratones previamente inducidos por 7,12-dimetilbencil [ $\alpha$ ] antraceno (DMBA) aplicando CAPE a las concentraciones de (1, 10, 100 y 3000 nmol) junto con 5nmol de TPA durante 20 semanas a las espaldas de los ratones.

Disminuyendo el número de tumores de la piel del ratón en un 24 a 70% y el volumen del tumor fue inhibido en un 42 a 74%.

Mou-Tuan Huang y cols. (1996) en USA probaron el efecto inhibitorio del CAPE en TPA inducida por la formación de 5-hidroximetil-2-dioxiuridina (HMdU) en el ADN de la epidermis de ratones previamente iniciados con 7,12-dimetilbencil [ $\alpha$ ] antraceno (DMBA). El HMdU es una de las muchas bases oxidadas en el ADN. La mayoría de estas bases oxidadas podrían servir como marcadores de estrés oxidativo. El número de residuos de HMdU en el ADN de la epidermis del ratón se redujo en un 67 a 89% bajo las dosis de CAPE de 100 a 3000 nM junto con 5 nM del TPA, el número de tumores del ratón se redujo de un 53 a 74 %.

Mou-Tuan Huang y cols. (1996) reportaron que el CAPE inhibe la incorporación de 3H- timidina en el ADN en un 32 a 95%. La incorporación de la 3H- uridina en el ARN fue inhibido en un 39 a 75%, mientras que la incorporación de la 3H- leucina en la proteína fue inhibida en un 28 a 47%, utilizando CAPE bajo diferentes concentraciones de 1.25, 2.5, 5, 19, y 20 $\mu$  M. Sus resultados mostraron que el CAPE es un potente inhibidor en la síntesis de ADN, ARN y proteínas en la línea celular HeLa.

Matsuno y cols. (1997) identificaron el diterpenoideclerodane (PMS-1) referido anteriormente como ácido 3,5-diprenil-4-hidroxi cinámico (Artepillina C) con un PM de 300.40 g/mol, que además posee una actividad antibacteriana. Este efecto citotóxico puede ser atribuido en parte a la fragmentación del ADN y apoptosis. Este principio exhibió una actividad antitumoral más efectiva que 5-fluorouracil (agente quimioterápico de ciertas afecciones neoplásicas) en ensayos realizados en cultivos celulares.

Mahmound y cols. (2000) investigaron la eficacia del CAPE para la prevención de los tumores en los ratones C57BL/6J-Min/+ (Min/+). Estos ratones tienen una mutación germinal en el APC y de forma espontánea desarrollan numerosos adenomas intestinales a las 15 semanas de edad. A nivel CAPE redujo la formación tumoral en un 33%. En el intestino CAPE previno la tumoración ya que este se asoció con un aumento del enterocito, la apoptosis y la proliferación. También el CAPE redujo la expresión de la oncoproteína beta-catenina en el enterocito del ratón.

Chen y cols. (2001) en la línea de células leucémicas humanas HL-60, sugirieron que la muerte celular programada inducida por CAPE está asociada con una disfunción mitocondrial, una reducción del glutathion (GSH), y una selección por peróxido de hidrógeno.

Nagaok T y cols. (2002) en Japón probaron al CAPE y a sus análogos mediante el ensayo de MTT, el crecimiento del carcinoma de colon de ratón 26-L5, melanoma de ratón B16-BL6, carcinoma pulmonar de Lewis en ratón, fibrosarcoma humano HT-1080, adenocarcinoma pulmonar humano A549 y en líneas celulares HeLa de adenocarcinoma de cérvix, se encontró que los análogos del CAPE poseían actividad antiproliferativa selectiva altamente metastásica en pulmón de ratón y en línea celular de adenocarcinoma de colon 26-L5. Entre ellos 4-fenilbutil cafeato, y el (E) -8- fenil-7- octenil cafeato, mostraron la actividad antiproliferativa más potente con un valor de  $IC_{50}$  0.02  $\mu$ M. Además CAPE indujo fragmentación de ADN a concentraciones de 1 a 10  $\mu$ g/mL en células cancerígenas de colon de ratón 26-L5.

Lugo y cols. (2003) mostraron el efecto del CAPE como un potente y específico inhibidor del factor de activación de transcripción nuclear NF –  $\kappa$ B, (este factor tiene un papel central sobre el control de la expresión de varias citosinas inflamatorias, así como el complejo principal de histocompatibilidad y sobre moléculas de adhesión involucradas en metástasis tumoral).

Zhao y cols. (2003) evaluaron el efecto de la proliferación del CAPE de manera *in vitro* mediante la incorporación de timidina y prolinatritiadas y apoptosis en líneas celulares hepáticas. Estos autores evaluaron la proliferación a concentraciones de 0.71, 2.8, 5.6 y 11.37  $\mu$ g/ml de CAPE. En este ensayo se reporta un efecto inhibitorio en la proliferación celular que ocurre en forma dosis dependiente y que para la máxima concentración encontraron una inhibición de la proliferación del 38.46 % con esto concluyeron que el CAPE es un inhibidor de la proliferación.

Özen, S y cols. (2004) en Turquía investigaron el efecto que tiene el CAPE en la nefrotoxicidad inducida por el cisplatino en ratas. El tratamiento con los radicales libres del CAPE atenuó el aumento de los niveles plasmáticos de nitrógeno de urea en sangre y los niveles de óxido nítrico renal, y mostró protección histopatológica inducida por el cisplatino. CAPE causó una marcada reducción en la extensión del daño tubular. Los investigadores concluyen que la administración de cisplatino impone un estrés oxidativo en el tejido renal y CAPE confiere protección contra el daño oxidativo, este mecanismo puede ser atribuido a su oxígeno libre, actividad de los radicales de compactación.

McEleny y cols. (2004) en Irlanda encontraron que CAPE es un fuerte inhibidor del factor nuclear de activación NF- $\kappa$ B en la línea celular cancerígena **PC-3** por el mecanismo de apoptosis y la correspondiente pérdida de la expresión IAP (proteína inhibidora de la apoptosis) en caspasa-dependiente, esta capacidad del CAPE de inducir apoptosis en una dosis-dependiente fue asociada con la pérdida de cIAP-1, cIAP-2 y la expresión XIAP. Bloqueando NF- $\kappa$ B es posible que un agente como el CAPE pueda permitir dosis más bajas de quimioterapia o radioterapia.

Dong Wang y cols. (2005) evaluaron el efecto de CAPE sobre proliferación y apoptosis en forma *in vitro* en células de cáncer colorectal (HCT116). La proliferación celular la evalúan mediante el ensayo de MTT a diferentes tiempos de incubación y a concentraciones de CAPE de 5.36, 6.47, 12.07 y 22.45  $\mu$ g/ml. Sus resultados mostraron una inhibición de crecimiento celular de dosis y exposición dependiente. A las 48 h observaron un porcentaje de inhibición de 48% a la concentración de 12.07 y a las 24 h en esta misma concentración de un 21% aproximadamente.

Hsing Chun Kuo y cols. (2006) reportaron que el CAPE posee un potencial antitumoral en células de glioma C6, el CAPE inhibió el crecimiento de estas células tumorales dosis y tiempo dependiente, aumentando el porcentaje de células en fase G<sub>0</sub> / G<sub>1</sub> e indujo una significativa disminución dosis dependiente en el crecimiento tumoral de xenoinjertos en ratones desnudos.

Cavaliere V. y cols. (2009) en Argentina evaluaron el efecto antiproliferativo y apoptótico del CAPE y MG-132 en células leucémicas. Los pacientes con leucemia linfoide y mieloide mostraron una disminución del 69 % y el 25% en la proliferación celular y 42% y 34% en la inducción de apoptosis no mostrando ningún efecto citotóxico sobre las células mononucleares periféricas. Por lo que CAPE puede ser útil en el tratamiento de las células hematológicas.

Albukhari y cols. (2009) en Arabia, analizaron los efectos protectores del CAPE contra la hepatotoxicidad inducida con TAM (tamoxifeno) a una concentración de 45 mg/Kg/día, por 10 días consecutivos, los resultados indicaron una elevación de la alanina aminotransferasa (ALT), aspartatoaminotransferasa (AST) y fosfatasa alcalina (ALP). El pretratamiento con CAPE (2.84 mg/Kg/ día) por 20 días consecutivos, comenzando 10 días antes de la inyección de TAM, previnieron significativamente la elevación en la actividad sérica de las enzimas evaluadas. CAPE inhibió significativamente a TAM por el agotamiento de GSH glutatión reducido y GSSG (acumulación de glutatión oxidado) y la acumulación de LPO (peroxidasa lipídica) por ello CAPE normaliza la actividad de GR, GPx, SOD y CAT, inhibió el aumento de TNF- $\alpha$ , mejorando los

cambios histopatológicos. En conclusión CAPE protege contra la hepatotoxicidad inducida por TAM.

El-Refaei y cols. (2010) en Egipto se investigaron el efecto antitumoral del CAPE. Para ello se implantaron células carcinógenas de Ehrlich. Se encontró que la administración de CAPE (15 mg/Kg) mostró que el volumen del tumor se redujo significativamente en un 51% esta inhibición puede estar relacionada con sus efectos angiostáticos y la apoptosis. También redujo los factores angiogénicos que pueden cambiar el equilibrio en el sentido angiostático del CAPE. Estos resultados proporcionan la posibilidad del uso del CAPE en un futuro en terapia de tumores en ensayos clínicos.

Wu Jing y cols. (2011) en Estados Unidos de América, demostraron que el CAPE en una concentración forma-dependiente inhibe las células MCF-7 (receptores humorales positivos, HR+) y MDA-231 (un modelo de crecimiento del tumor triple negativo) tanto *in-vitro* como *in-vivo* teniendo poco efecto sobre las células de mama normales, los investigadores concluyeron que CAPE tiene gran influencia de genes y expresión de proteínas se indujo la detección del ciclo celular; se indujo la apoptosis y se redujo la expresión del factor de crecimiento y factores de transcripción entre ellos NF- $\kappa$ B. CAPE suprimió por dosis-dependiente, la formación de VEGF en las células MDA-231 y la formación de capilares inhibiendo así la formación del cáncer de mama.

Dev-Aur Chou y cols. (2011) en Taiwán demostraron que los derivados del cafeato, inhibieron el crecimiento de las células cancerígenas de COLO 205. El tratamiento de las células cancerígenas con cafeato de decilo causó la pérdida potencial de la membrana mitocondrial. Los resultados revelaron que el cafeato de decilo estimula un aumento en las expresiones de las proteínas Fas, FasL, AIF y Apaf-, además de que el tratamiento con este derivado cambió los niveles de expresión de pro y anti apoptótica miembros de la familia Bcl-2 y posteriormente inducida por la caspasa 12, caspasa-9, caspasa-3 seguido mediante la fragmentación de PARP. Esto demuestra que el derivado del cafeato indujo apoptosis en células de COLO 205 a través de ambas vías mediadas por Fas y mitocondrias.

## 6.2 ESTUDIOS REALIZADOS EN MÉXICO

Las diversas actividades biológicas encontradas en el **CAPE** han sido estudiadas en modelos *in vitro* e *in vivo*, entre estas actividades se encuentran el efecto antitumoral el cual aún está siendo elucidado. Uno de los grupos de investigación que han aportado estudios sistemáticos que proponen la explicación acerca del mecanismo de acción del **CAPE**, es el grupo del Dr. Saúl Villa Treviño.

Carrasco y cols. (2004) demostraron que el **CAPE** posee un efecto quimio-protector en la hepatocarcinogénesis experimental inducida por N-dietilnitrosamina (DEN) en ratas Wistar. Los resultados de este trabajo sugieren que el **CAPE** ejerce una actividad quimioprotectora contra la inducción de lesiones pre-neoplásicas, promoción y progresión del proceso de hepatocarcinogénesis. Una probable explicación del mecanismo de quimio- protección sería a nivel del NF- $\kappa$ B, ya que el **CAPE** previene la activación, lo que impediría que los tumores presenten resistencia a fármacos, con estos resultados del modelo del hepatocito resistente y la evaluación de marcadores enzimáticos, se postula al **CAPE** como un agente quimioprotector que podría utilizarse al inicio y durante el proceso carcinógeno de hígado.

Beltrán y cols. (2005) trataron de elucidar si el mecanismo de acción del **CAPE** como quimioprotector involucra la modificación de las isoformas de citocromo (CYP) que pueden estar participando en el metabolismo de N-dietilnitrosamina (DEN). Para esto se usó el modelo de hepatocito resistente y el **CAPE** se administró 12 h antes de la iniciación, obteniendo como resultado que una sola dosis disminuye en un 70% la posibilidad de que las ratas desarrollen tumores, sugiriendo que un posible mecanismo quimioprotector es a través del metabolito del carcinógeno (DEN) pues el **CAPE** modificó la actividad de algunos CYP que podrían estar involucrados en su metabolismo CYP2E1, CYP1A1/1A2 y CYP2B1/2B2.

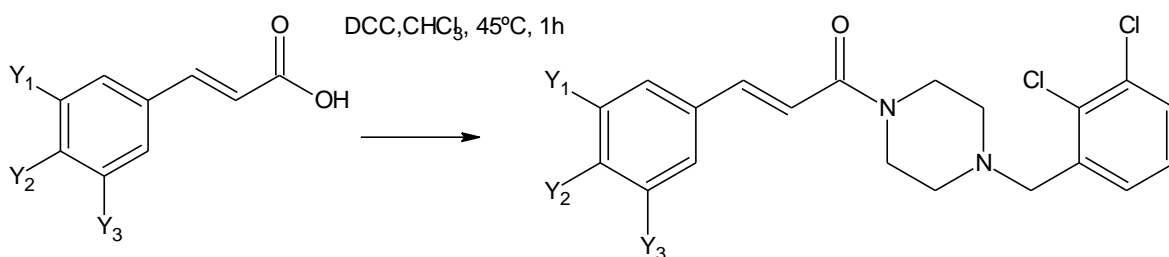
Domínguez y cols. (2009) determinaron el comportamiento de la proliferación celular en las líneas HeLa, Vero, Jurkat y K562 mediante ensayos de MTT, en este estudio se observó una marcada disminución de la proliferación celular dependiendo de la concentración de **CAPE**, de la línea celular y del tiempo de incubación. El **CAPE** demostró ser capaz de inducir apoptosis en las líneas tratadas siendo las células Jurkat y las células mononucleares de sangra periférica las que mostraron un mayor porcentaje de apoptosis, 55% y 65%. El **CAPE** demostró tener efecto genotóxico mucho menor al del control positivo (ifosfamida).



### 6.3 ESTUDIOS REALIZADOS CON LOS ANÁLOGOS AL CAPE

Yang John y cols . (2010) en Estados Unidos de America , sintetizaron una serie de anillos catecol fluorados derivados de la Amida Fenética del Ácido Caféico (**CAPA**), los cuales se estudiaron para detectar la actividad citoprotectora contra el estrés oxidativo inducido por  $H_2O_2$  en las células endoteliales del cordón umbilical humano (HUVEC) **CAPA** y tres análogos fluorados se encontraron que eran significativamente citoprotectores en comparación con el control positivo (**CAPE**), el ensayo de citoprotección dosis dependiente HUVEC fue evaluado con el **CAPE** y **CAPA** a concentraciones de 1, 5, 20, 40 y 60  $\mu M$  previos a la inducción del estrés oxidativo. La  $IC_{50}$  para el **CAPE** fue de 8  $\mu M$  y para **CAPA** 2  $\mu M$ .

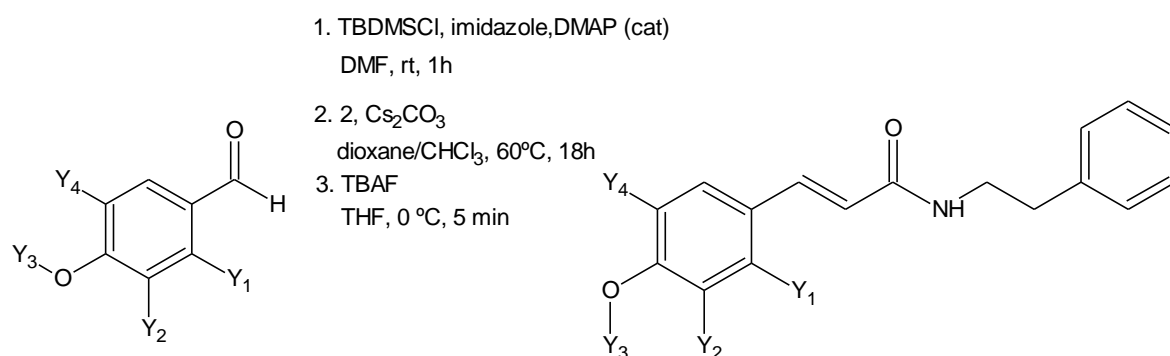
Las condiciones de reacción utilizadas para la síntesis de los derivados de la **CAPA** mencionados en este artículo son mostrados en el siguiente esquema:



$Y_1, Y_2, Y_3$ : X, O-Me, OH, DCC: acoplado dicitclohexilcarbodimida

Hougbin Zou y cols. (2010) en Alemania estudiaron la relación que tiene la actividad citotóxica con la estructura de los derivados del ácido caféico teniendo como conector líder a la piperazina. Se usó como control positivo a el **CAPE** y al cisplatino, los derivados fueron evaluados contra 12 líneas celulares cancerígenas por el ensayo colorimétrico de **MTT**. Los resultados demuestran que los análogos con el conector de piperazina (serie 3) son más potentes que los que tienen conexión con la amina aromática serie (2) y la amida serie (1), las líneas celulares que fueron más sensibles a éstos compuestos fueron HL-60 y K562. Compuestos que contienen grupos hidroxilos libres mostraron citotoxicidad selectiva y significativa en la línea celular cancerígena **HeLa**.

Las condiciones de reacción utilizadas para la síntesis de los derivados fluorados de la CAPA mencionados en este artículo son mostrados en el siguiente esquema:



$\text{Y}_1, \text{Y}_2, \text{Y}_3, \text{Y}_4$ : X, O-Me, OH

TBDMSCl: cloro-tert-butildimetilsilano, TBAF: Tetra-butyl-ammonium fluoride, THF: tetra-hidrofurano

## **7. JUSTIFICACIÓN**

Debido a los efectos secundarios que se han presentado en los diversos tratamientos para el cáncer, como su elevada toxicidad a las células sanas, depresión de la médula ósea, afectación de las mucosas en el aparato digestivo, afectación de los folículos pilosos, vómitos, entre otros, se han buscado nuevas alternativas para encontrar nuevos posibles fármacos que puedan combatir el cáncer, entre esas alternativas está la síntesis química de compuestos derivados de productos naturales que puedan tener ésta actividad antineoplásica, las cuales puedan disminuir los efectos ya mencionados. Es por eso el interés de este proyecto, ya que distintos estudios demuestran que el Éster Fenético del Ácido Caféico (CAPE) sustancia contenida en el propóleo de las abejas, es un potente inhibidor selectivo en el crecimiento de las células neoplásicas y no de las células normales (linfocitos).

## **8. OBJETIVOS**

### **8.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la actividad citotóxica de compuestos análogos del Éster Fenetílico del Ácido Caféico (CAPE), en diversas líneas celulares tanto cancerígenas como sanas “células mononucleares de sangre periférica” (linfocitos) y fibroblastos (CCD-1079Sk).

### **8.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

1. Evaluar la actividad citotóxica de 30 compuestos pertenecientes a la serie LQM700 en las líneas celulares neoplásicas: MDA-MB 231 (cáncer de mama), HeLa (cáncer de cérvix) y PC-3 (cáncer de próstata) a la concentración de 100  $\mu$ M, utilizando la técnica de MTT y CV.
2. Evaluar la actividad citotóxica de 30 compuestos pertenecientes a la serie LQM700 en un cultivo primario de células mononucleares de sangre periférica (linfocitos) y en la línea celular transformada de fibroblastos (CCD-1079Sk).
3. Evaluar la actividad citotóxica de los tres mejores compuestos citotóxicos análogos del CAPE de la serie LQM700, en las 3 líneas celulares neoplásicas: MDA-MB 231 (cáncer de mama), HeLa (cáncer de cérvix) y PC-3 (cáncer de próstata) a diferentes concentraciones, mediante la técnica de MTT y CV a un tiempo de exposición de 12 y 24 horas.
4. Evaluar la actividad citotóxica de los 3 compuestos análogos del CAPE, en un cultivo primario de células no cancerosas (linfocitos) y la línea celular transformada de fibroblastos (CCD-1079Sk), mediante la técnica de MTT y CV a un tiempo de exposición de 12 y 24 horas.
5. Obtener la  $IC_{50}$  de los tres compuestos derivados del CAPE, para así saber cuál es el compuesto más efectivo para las células cancerígenas y menos tóxico para los linfocitos y fibroblastos.

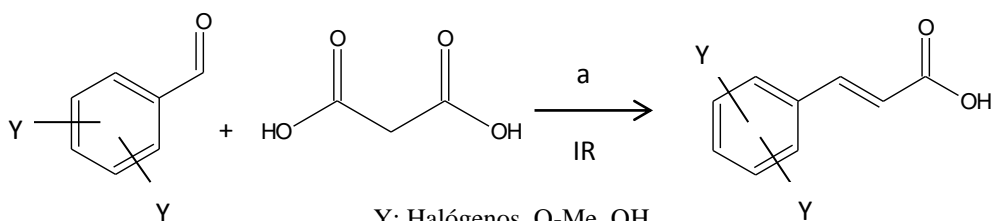
## 9. MATERIALES Y MÉTODOS

### 9.1 Compuestos derivados del CAPE

La síntesis de los compuestos LQM de este experimento se realizaron a partir de la síntesis de un análogo del Ácido Cinámico; preparado mediante la síntesis de condensación de Knoevenagel a partir de un aldehído aromático con Ácido Malónico.

El uso del ácido cinámico como fármaco es conocido, ya que se le atribuyen diversas propiedades benéficas, desde antioxidante hasta hepatoprotector y antiinflamatorio. Son sus derivados los que han llegado a presentar diversas actividades como el felúrico que presenta propiedades antioxidantes al ser un buen captador de radicales, al igual que el ácido caféico el cual ha sido muy estudiado como un agente antioxidante hepatoprotector y antineoplásico.

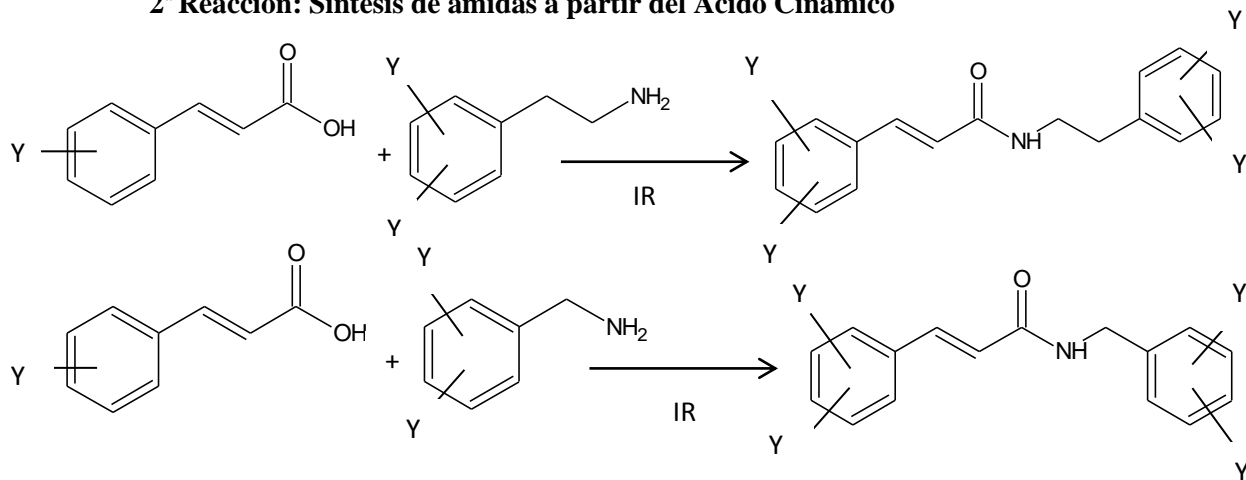
#### 1ª Reacción: Síntesis de análogos del ácido cinámico



a: piperidina, ácido acético

La síntesis de los compuestos análogos del CAPE fue a partir de los análogos del Ácido Cinámico con una amina primaria sustituida obteniendo así derivados de la Amida Fenética del Ácido Caféico (CAPA).

#### 2ª Reacción: Síntesis de amidas a partir del Ácido Cinámico



Estos compuestos fueron caracterizados mediante técnicas espectroscópicas como IR y RMN para  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  y espectrometría de masas en el Laboratorio de Química Medicinal de la FES- Cuautitlán UNAM.

## 9.2 Líneas Celulares y Cultivo primario

Para la realización de este trabajo se utilizaron tres líneas celulares cancerígenas las cuales son: MDA-MB 231 (cáncer de mama), HeLa (cáncer de cérvix) y PC-3 (cáncer de próstata), proporcionadas por el Instituto Nacional de Ciencia Médica y Nutrición (INCMN). El manejo del cultivo celular de las líneas cancerígenas, fue realizado en condiciones de esterilidad en campana de flujo laminar, usando material y soluciones estériles, mantenida en medio de cultivo DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, SIGMA) No. Cat: D5648, suplementado con 10% de Suero Fetal Bovino (Invitrogen), 1 % de Antibiótico – Antimicótico (Bio West) No. Cat: L0010-100 (Sulfato de Estreptomicina y Penicilina G en solución) incubadas bajo las siguientes condiciones a 37 °C en 5% de  $\text{CO}_2$  con 95% de humedad.

El cultivo primario de linfocitos fue obtenido de sangre periférica de seres humanos sanos, aislando estas células con el reactivo Lymphoprep™ (Axis-Shield PoC AS) No. Cat: LY53773, el cual separa a las células mononucleares; estas células fueron mantenidas en medio RPMI (Roswell Park Memorial Institute, Gibco) con 10% de Suero Fetal Bovino (Hyclone Fetal Bovine Serum, Thermo Scientific), 1% de Antibiótico – Antimicótico ((Bio West), (Sulfato de Estreptomicina y Penicilina G en solución) incubadas bajo las condiciones antes mencionadas.

### 9.2.1 Características de la línea celular de cáncer de mama (MDA-MB-231)

Tipo de célula: Epitelial

Propiedades de crecimiento: Adherentes

Derivado del sitio metastásico: Derrame pleural

Edad: 51 años

Género: Femenino

Origen étnico: Caucásico

Adenocarcinoma originario de la glándula mamaria

Factor de crecimiento epidérmico (EGF) transformante Alfa- receptor

Células que expresan el oncogén WNT7B

### 9.2.2 *Características de la línea celular de cáncer de cérvix (HeLa)*

Tipo de célula: Epitelial

Células que contienen el virus de papiloma humano 18 (HPV-18)

Adenocarcinoma originario del cuello uterino

Edad: 31 años

Origen étnico: Raza negra.

Análisis citogénico: Modal número 82, rango 70 a 164. Hay un pequeño cromosoma matelo céntrico en el 98 % de las células. Aneuploidía 100% en 1385 células examinadas.

### 9.2.3 *Características de la línea celular de cáncer de próstata (PC-3)*

Tipo de célula: Epitelial

Propiedades de crecimiento: Adherentes (las células forma grupos alargados y pueden adaptarse al crecimiento de suspensión)

Edad: 62 años

Origen étnico: Caucásico

Adenocarcinoma originario de la próstata

La línea celular PC-3 se inició a partir de la metástasis de la medula ósea de grado IV

Las células presentan fosfatasa acida baja y actividad de testosterona 5 Alfa- reductasa

La línea es casi triploide con un número modal de 62 cromosomas. Hay casi 20 cromosomas marcadores que se encuentran comúnmente en cada celda, N2 normal, N3, N4, N5, N12, N15 no se encuentran.

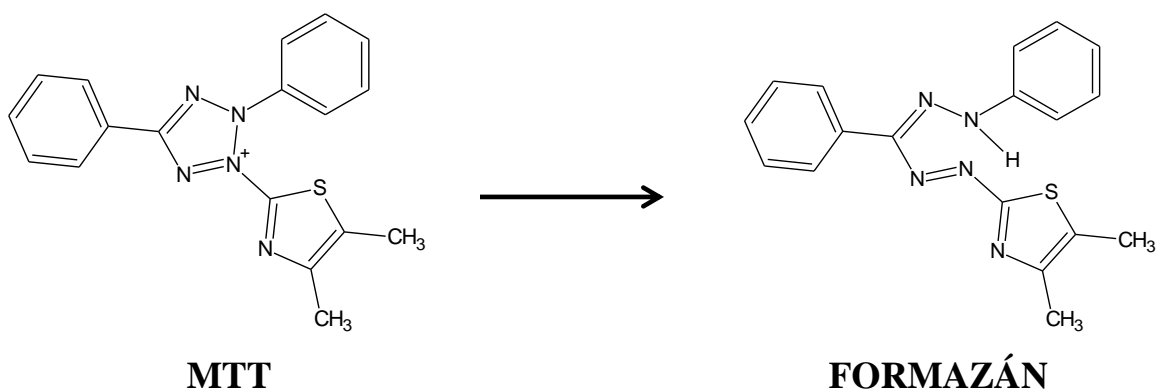
## 9.3 Almacenamiento y congelamiento

Las líneas celulares fueron congeladas en medio con suero y DMSO (Dimetil Sulfóxido, Sigma, No. Cat. D5879) al 10% a -70 °C en Crioviales de congelación 2.0 mL (CORNING). Para descongelar las células, el procedimiento se realizó a baño María a 37 °C, y eliminando el DMSO por centrifugación a 1,100 rpm por 5 minutos con PBS 1X y medio de cultivo suplementado.

## 9.4 Evaluación de la citotoxicidad con MTT

El fundamento de esta técnica es determinar la viabilidad celular, dada por el número de células presentes en el cultivo, lo cual es capaz de medirse mediante la formación de un compuesto coloreado, debido a una reacción que tiene lugar en la mitocondria de la célula viva. El MTT (Bromuro de 3(4,5 dimetil-2-tiazolil)-2,5- difeniltetrazólico), es captado por las células y reducido por la enzima succínico deshidrogenasa mitocondrial a su forma insoluble Formazán. (Mossmann, 1983). Figura 13.

El producto de la reacción, el Formazán queda retenido en las células y puede ser liberado mediante la solubilización de las mismas. De esta forma es cuantificada la cantidad de MTT reducido mediante un método colorimétrico, ya que se produce como consecuencia de la reacción un cambio de coloración del amarillo al azul.



**Figura 13.** Transformación del MTT a Formazán

La capacidad de las células para reducir al MTT constituye un indicador de la integridad de las mitocondrias y su actividad funcional es interpretada como una medida de la viabilidad celular. La determinación de la capacidad de las células de reducir el MTT a Formazán después de su exposición a un compuesto, permite obtener información acerca de la toxicidad del compuesto que se evalúa.

Es necesario tener en cuenta que si el producto que se evalúa precipita en el medio de cultivo, estos resultados deben ser descartados. Por lo tanto debe utilizarse en el ensayo un control de medio, un control de disolvente y un control positivo de muerte celular.



#### **9.4.1 Procedimiento**

De cultivos confluentes se despegaron las células con Tripsina al 0.1% (SIGMA) No. Cat: T7409 y fueron re-suspendidas en medio DMEM suplementado, para determinar el número de células requeridas por pozo, fue necesario contar las células de una alícuota en cámara de Neubauer y hacer los ajustes pertinentes para tener en cada pozo  $8 \times 10^3$  células de la línea PC3,  $10 \times 10^3$  de HeLa,  $10 \times 10^3$  de MDA-MB 231 y  $10 \times 10^3$  en el caso de linfocitos fibroblastos. Después de sembrar en las placas, ésta se incubó por 12 y 24 h a 37 °C con 5% de CO<sub>2</sub> para permitir su adherencia.

Por otro lado, cada compuesto fue pesado entre 1-2 mg, estos fueron disueltos en 1 ml DMSO c/u por separado, de la cual se partió para preparar otra alícuota en la que quedarían a una concentración de 200, 100, 75, 50, 37 y 25 µM en medio DMEM, de tal manera que al añadir 100 µL de este a los pozos de las placas, deberá quedar a la mitad de las concentraciones que van desde 100 µg/mL hasta 12.5 µg/mL en cada uno de los pozos. Como control negativo se utilizó el DMSO (0.1 %) y como control positivo el diterpeno Taxol (Paclitaxel) (0.5 µg/mL). SIGMA No. Cat: T7402. Una vez agregado a cada una de los pozos el respectivo tratamiento, cada una de las placas de 96 pozos fue incubada a 37 °C en atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> durante 12 y 24 horas. Al término del tratamiento, este fue retirado y se agregó 100 µL de MTT (1X = 5 mg/mL disuelto en medio sin suero) por pozo y se incubó por 4 h a 37 °C para permitir la metabolización y formación de cristales de formazán en obscuridad. Al término de este tiempo se eliminó el sobrenadante de cada pozo y se agregó 100 µL de DMSO 9.9% esto para permitir la solubilización del Formazán haciendo movimientos suaves a la placa. Finalmente, la placa fue leída en un espectrofotómetro (*TECAN GENios*) a una longitud de onda de 570 nm.

#### **9.5 Evaluación de la citotoxicidad con Cristal Violeta (CV)**

El cristal violeta es un colorante que se une electrostáticamente a las proteínas nucleares y por tanto tiñe el ADN. Este método permite valorar la viabilidad celular así como los fenómenos de adhesión y des-adhesión celular bajo distintas condiciones experimentales. El método se basa en la tinción de las células con una solución de cristal violeta 0.1% y el colorante fijado a las células es solubilizado, lo cual es proporcional a la masa celular total al medir el solubilizado espectrofotométricamente a 595 nm (Kueng y cols, 1989)

### 9.5.1 Procedimiento

Al igual que en la técnica de MTT, las células cancerosas fueron sembradas en placas de 96 pozos ( $1 \times 10^4$  cel/pozo) y al igual que los linfocitos, posteriormente se incubaron por 12 y 24 h para permitir su adherencia.

Se usaron las mismas concentraciones de 100  $\mu\text{g/mL}$  a 12.5  $\mu\text{g/mL}$  y se dejó incubar por 12 y 24 h. Al término del tratamiento se retiró el medio y se lavó con 100  $\mu\text{L}$  de PBS 1X retirando en seguida, después se le adicionó 100  $\mu\text{L}$  de formaldehído al 1.1% a cada uno de los pozos, dejando reposar por 15 minutos, transcurrido el tiempo se retiró la solución y se le agregó 50  $\mu\text{L}$  de Cristal Violeta (0.1%), dejando reposar por 20 minutos y al término de este tiempo se retiró el CV, se lavó con agua destilada por sumersión hasta eliminar el exceso de colorante, después se dejó secar completamente la placa a temperatura ambiente. Posterior a esto se solubilizó el CV de cada uno de los pozos con 100  $\mu\text{L}$  de ácido acético (33%). Finalmente la placa fue leída en un espectrofotómetro (*TECAN GENios*) a una longitud de onda de 575 nm.

### 9.6 Análisis de los resultados

Las pruebas fueron realizadas cada una por triplicado y con tres estudios independientes. Con los valores de las lecturas del espectrofotómetro se calculó el porcentaje viabilidad celular para las dos técnicas de la siguiente manera:

Los resultados fueron expresados como porcentaje (%) de células vivas, según la siguiente relación:

$$\% \text{ viabilidad} = \frac{\text{D.O células tratadas}}{\text{D.O células controles}} \times 100$$

La curva dosis respuesta debe ser calculada teniendo en cuenta el rango de concentración utilizado y el porcentaje de reducción del crecimiento celular correspondiente. A partir de ello se calculó la concentración que produce la reducción de la viabilidad celular en un 50 %.

A partir de los datos calculados del porcentaje de viabilidad, se calculó el  $\text{IC}_{50}$  (Concentración Inhibitoria a la cual el compuesto redujo la viabilidad celular en un 50% de la población) (Denizot et al., 1986).

### 9.7 Cálculo de $\text{IC}_{50}$

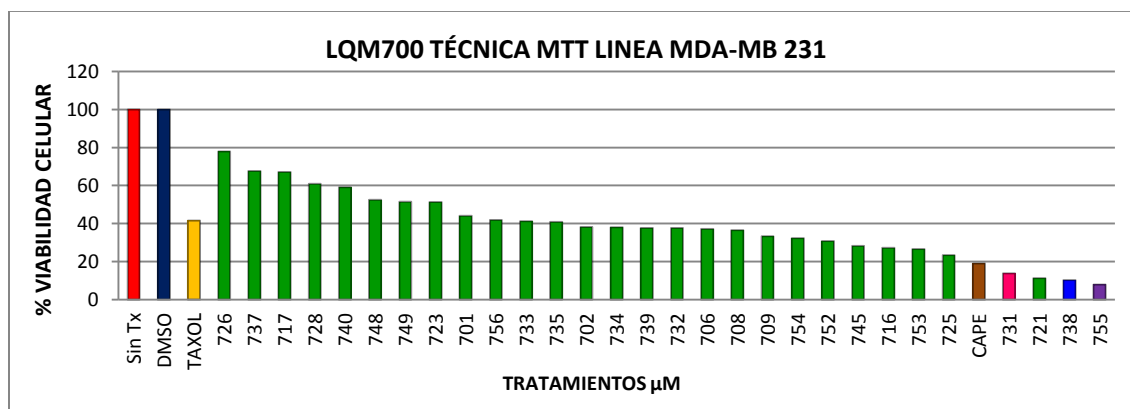
Mediante el programa de GraphPad 5.0 se realizó una regresión no lineal entre el porcentaje de supervivencia y el log de las concentraciones, obteniendo el valor de  $\text{IC}_{50}$ . Con estos resultados se seleccionó el compuesto que tuvo el mayor efecto al inhibir el crecimiento de las células tumorales y el compuesto que no fue dañino a las células sanas.

## 10. RESULTADOS DEL TAMIZ PARA LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS, EVALUADAS CON LA TÉCNICA DE MTT

Se evaluó el efecto citotóxico de 30 compuestos de la serie LQM700 en las líneas celulares tumorales MDA-MB 231, HeLa y PC3 a la concentración de 100  $\mu$ M durante 24 horas, con las técnicas de MTT y CV.

### 10.1 Efecto citotóxico de los compuestos LQM700 en la línea celular MDA-MB 231, evaluada con la técnica de MTT

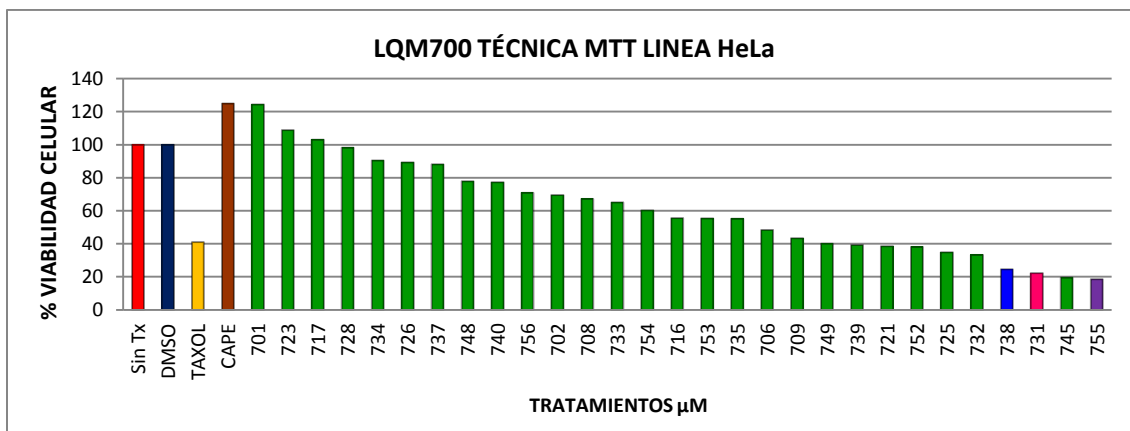
En la Figura 14 se muestran los resultados de la citotoxicidad de los 30 compuestos pertenecientes a la serie LQM700, evaluados con la técnica de MTT, en la línea celular de cáncer de mama MDA-MB 231 a un tiempo de exposición de 24 h, en donde se observa que los compuestos LQM731, 738 Y 755, mostraron % de viabilidad por debajo del 20 %, teniendo al LQM731 con un 13.70, el 738 con 10.25 % y el LQM755 con un 7.85%.



**Figura 14.** Porcentaje de viabilidad de la línea neoplásica MDA-MB 231, tratada con 30 compuestos de la serie LQM700 expuestas por 24 h a la concentración 100  $\mu$ M

### 10.2 Efecto citotóxico de los compuestos LQM700 en la línea celular HeLa, evaluada con la técnica de MTT

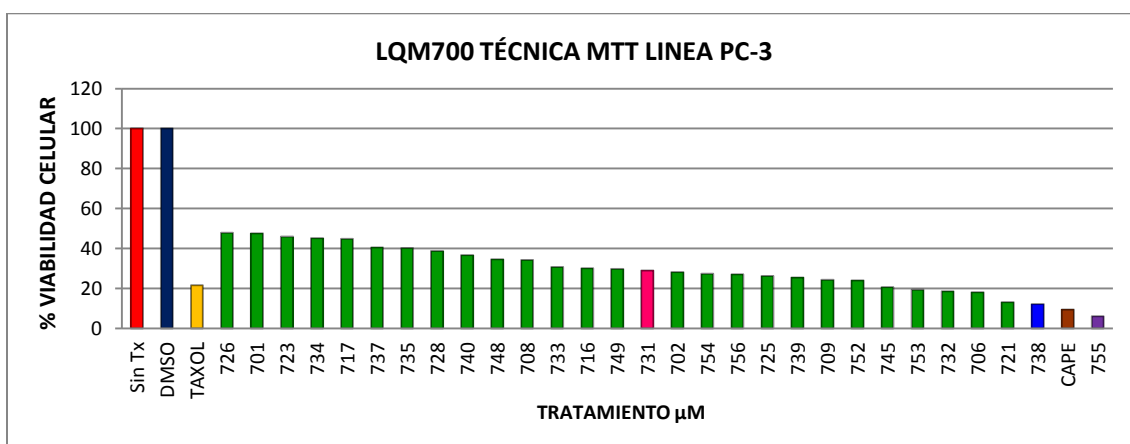
La Figura 15 muestra el mismo efecto citotóxico de los mismos compuestos para la línea celular de cáncer cervical HeLa; teniendo al LQM731 con un porcentaje de viabilidad de 22.14, al 738 con un % de 24.47 y al LQM755 con un 18.49 % de viabilidad, es importante mencionar que estos compuestos en esta línea son mejores que el CAPE.



**Figura 15.** Porcentaje de viabilidad de la línea neoplásica **HeLa**, tratada con 30 compuestos de la serie LQM700 expuestas por 24 h a la concentración 100  $\mu\text{M}$

### 10.3 Efecto citotóxico de los compuestos LQM700 en la línea celular PC3, evaluada con la técnica de MTT

En la Figura 16 se muestran los porcentajes de viabilidad que presentaron los compuestos de la serie LQM700 en la línea celular de cáncer de próstata PC-3, a un tiempo de exposición de 24 h en donde se observa que los compuestos que presentaron las mejores viabilidades fueron el LQM738 con un % de viabilidad de 12.12% y el LQM755 6.17%, sin descartar al LQM731 que presento un porcentaje de 29%, considerando que fue uno de los mejores que presento bajos porcentajes de viabilidad en las líneas de cáncer de mama y cérvix, así también siendo este mejor comparado con el compuesto que presenta el mayor % encontrado en 48% .



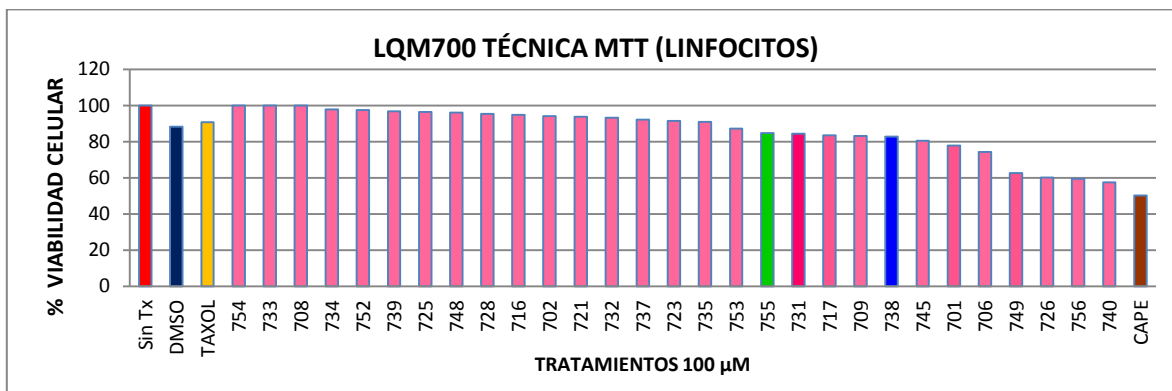
**Figura 16.** Porcentaje de viabilidad de la línea neoplásica **PC3**, tratada con 30 compuestos de la serie LQM700 expuestas por 24 h a la concentración 100  $\mu\text{M}$

## 11. RESULTADOS DEL TAMIZ PARA EL CULTIVO PRIMARIO DE CÉLULAS NO CANCEROSO (LINFOCITOS) Y TEJIDO SANO (FIBROBLASTOS) EVALUADAS CON LA TÉCNICA DE MTT

Se evaluó el efecto citotóxico de 30 compuestos de la serie LQM700 en un cultivo primario de células no canceroso (linfocitos) y tejido sano (fibroblastos) a la concentración de 100  $\mu\text{M}$  durante 24 horas, evaluando con las técnicas de MTT.

### 11.1 Efecto citotóxico de los compuestos LQM700 en un cultivo primario no canceroso (linfocitos), evaluada con la técnica de MTT

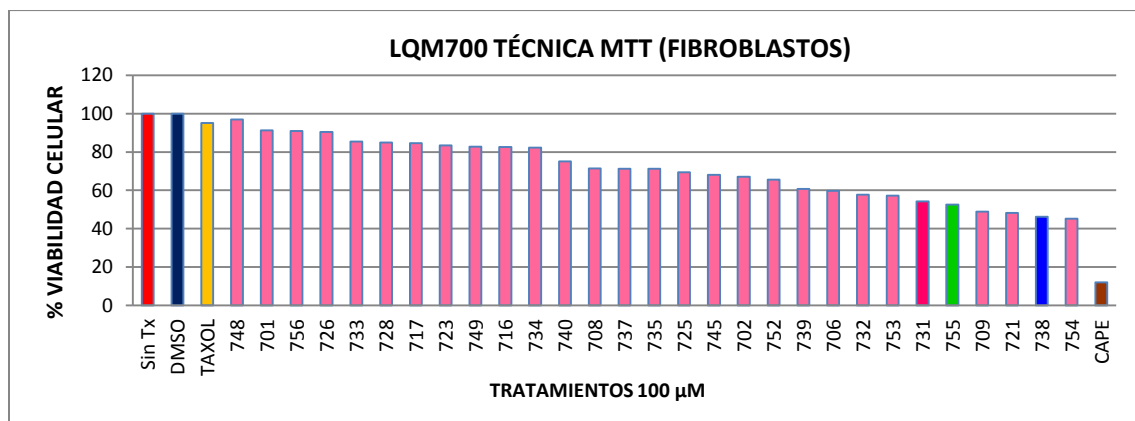
En la Figura 17 se observan los porcentajes de viabilidad de los 30 compuestos pertenecientes a la serie LQM700 en un cultivo primario de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) a un tiempo de exposición de 24 h, en ella se puede observar que los compuestos LQM731, 738 y 755 muestran porcentajes de viabilidad aceptables, teniendo al 731 y 755 en un 84%, y al LQM738 con un 82.86%, siendo superiores al CAPE que se encuentra en un valor de 50.27%.



**Figura 17.** Porcentaje de viabilidad celular de un cultivo primario no canceroso (linfocitos), tratado con 30 compuestos de la serie LQM700 expuestas por 24 h a la concentración 100  $\mu\text{M}$

## 11.2 Efecto citotóxico de los compuestos LQM700 en tejido de células sanas (fibroblastos), evaluada con la técnica de MTT

En la Figura 18 se muestran los porcentajes de viabilidad que presentaron los 30 compuestos de la serie LQM700 en un cultivo de tejido sano (fibroblastos) a un tiempo de exposición de 24 h. En ella se puede observar que los fibroblastos fueron un poco más susceptibles al efecto citotóxico de los compuestos, mostrando viabilidades de 54.25% para el LQM731, 46.20% para el LQM738 y 52.49 % para el LQM755, sin embargo comparando con el CAPE estos fueron mejores ya que este presentó una viabilidad del 12%.

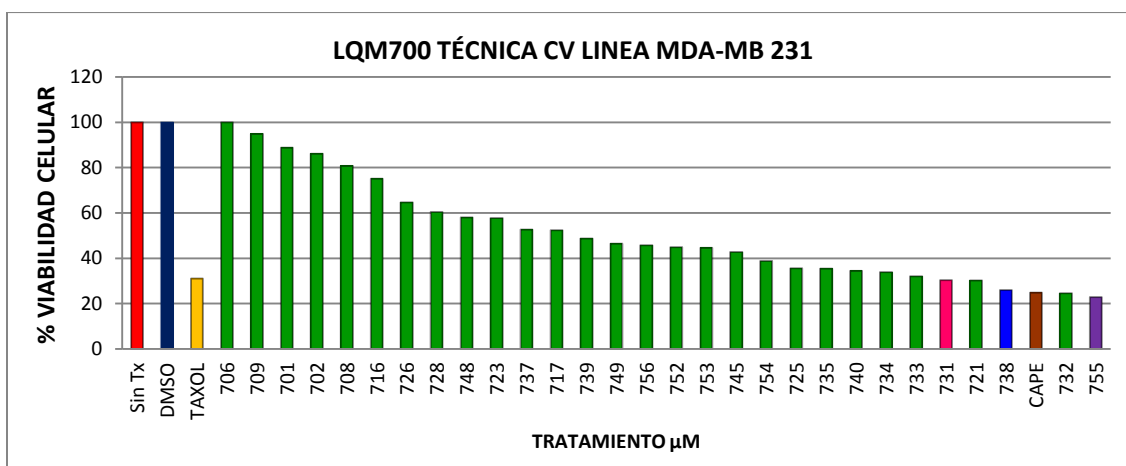


**Figura 18.** Porcentaje de viabilidad celular en un tejido de células sanas (fibroblastos), tratado con 30 compuestos de la serie LQM700 expuestas por 24 h a la concentración 100 µM

## 12. RESULTADOS DEL TAMIZ PARA LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS EVALUADAS CON LA TÉCNICA DE CV

### 12.1 Efecto citotóxico de los compuestos LQM700 en la línea celular MDA-MB 231, evaluada con la técnica de CV

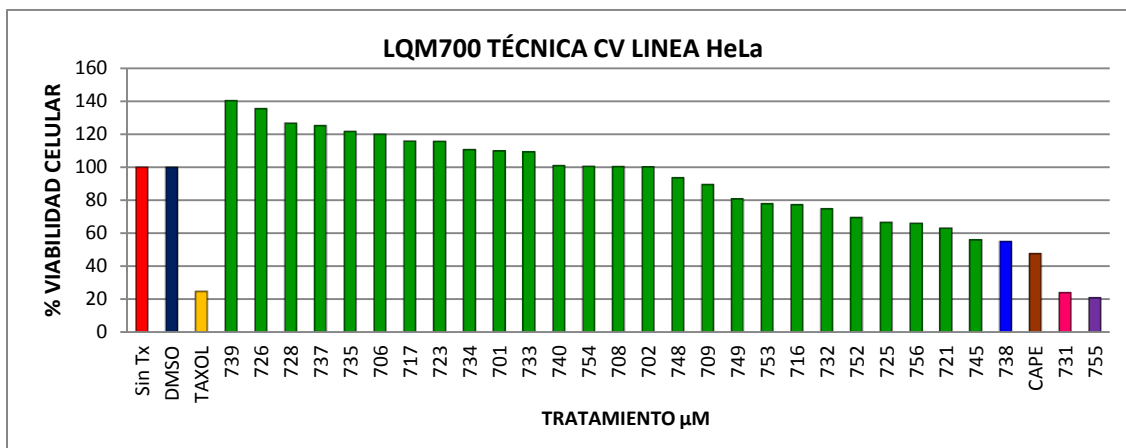
En la Figura 19 se muestran los resultados de la citotoxicidad de los 30 compuestos pertenecientes a la serie LQM700, evaluados con la técnica de CV, en la línea celular de cáncer de mama MDA-MB 231 a un tiempo de exposición de 24 h. En ella se observa que los compuestos LQM731, 738 Y 755 siguen formando parte de los compuestos que presentan mayor efecto citotóxico para esta línea cancerígena, con porcentajes de viabilidad de 30.28% para el LQM731, 25.98% LQM738 y 22.88 % para el LQM755, El CAPE mostró una viabilidad de 24.86%.



**Figura 19.** Porcentaje de viabilidad de la línea neoplásica **MDA-MB 231**, tratada con 30 compuestos de la serie LQM700 expuestas por 24 h a la concentración 100  $\mu\text{M}$

### 12.2 Efecto citotóxico de los compuestos LQM700 en la línea celular HeLa, evaluada con la técnica de CV

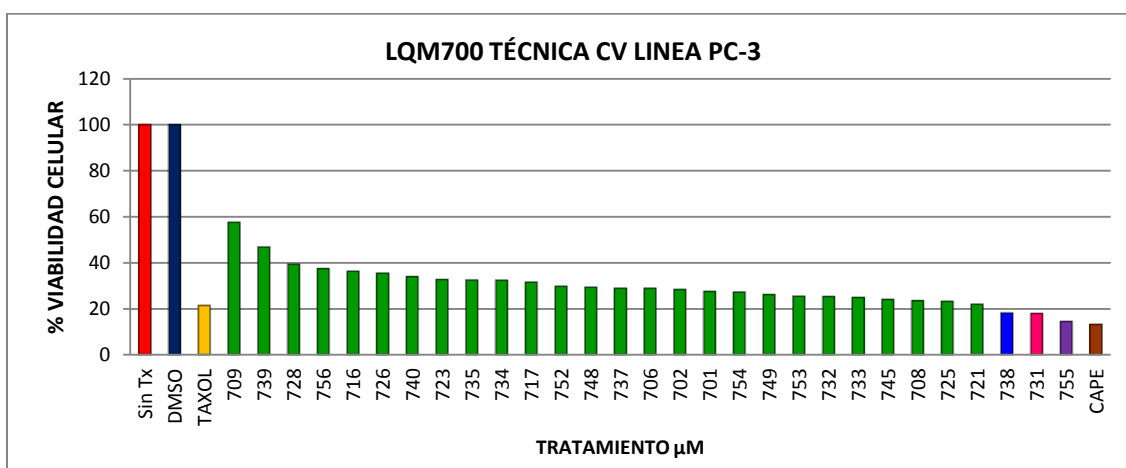
La Figura 20 muestra los resultados de la citotoxicidad de los 30 compuestos, evaluados con la técnica de CV, en la línea celular de cáncer de cérvix HeLa en la cual se puede observar que los compuestos LQM731, 738 y 755 siguen mostrando efecto citotóxico significativos con porcentajes de viabilidad de 23.92% para el LQM731, el 738 con un 54.83 % y al LQM755 con un 20.62 % de viabilidad, El CAPE mostró una viabilidad de 47.48%.



**Figura 20.** Porcentaje de viabilidad de la línea neoplásica **HeLa**, tratada con 30 compuestos de la serie LQM700 expuestas por 24 h a la concentración 100  $\mu\text{M}$

### 12.3 Efecto citotóxico de los compuestos LQM700 en la línea celular PC-3, evaluada con la técnica de CV

En la Figura 21 se muestran los porcentajes de viabilidad de los 30 compuestos para la línea celular de cáncer de próstata PC-3, en la que se puede describir que los compuestos que presentan el mejor efecto citotóxico siguen siendo los LQM 731, 738 y 755 con un porcentaje de viabilidad para el LQM731 de 17.94% para el 738, 18.32% y para el LQM755, 14.51%. El CAPE mostró una viabilidad de 13.28%.



**Figura 21.** Porcentaje de viabilidad de la línea neoplásica **PC3**, tratada con 30 compuestos de la serie LQM700 expuestas por 24 h a la concentración 100  $\mu\text{M}$

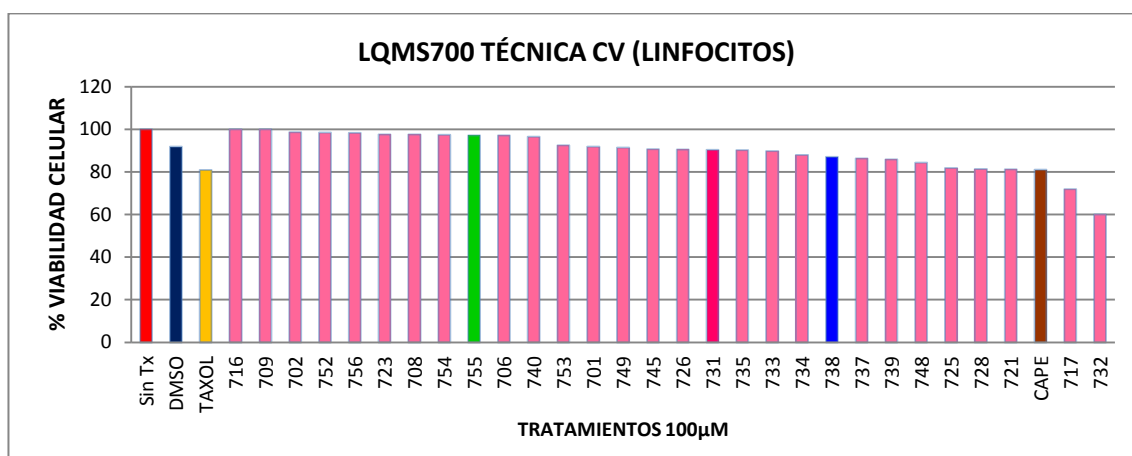


### 13. RESULTADOS DEL TAMIZ PARA EL CULTIVO PRIMARIO DE CÉLULAS NO CANCEROSO (LINFOCITOS) Y TEJIDO SANO (FIBROBLASTOS) EVALUADAS CON LA TÉCNICA DE CV

Se evaluó el efecto citotóxico de 30 compuestos de la serie LQM700 en un cultivo primario de células no canceroso (linfocitos) y tejido sano (fibroblastos) a la concentración de 100  $\mu\text{M}$  durante 24 horas, evaluando con las técnicas de CV.

#### 13.1 Efecto citotóxico de los compuestos LQM700 en un cultivo primario no canceroso de células mononucleares de sangre periférica (linfocitos), evaluada con la técnica de CV

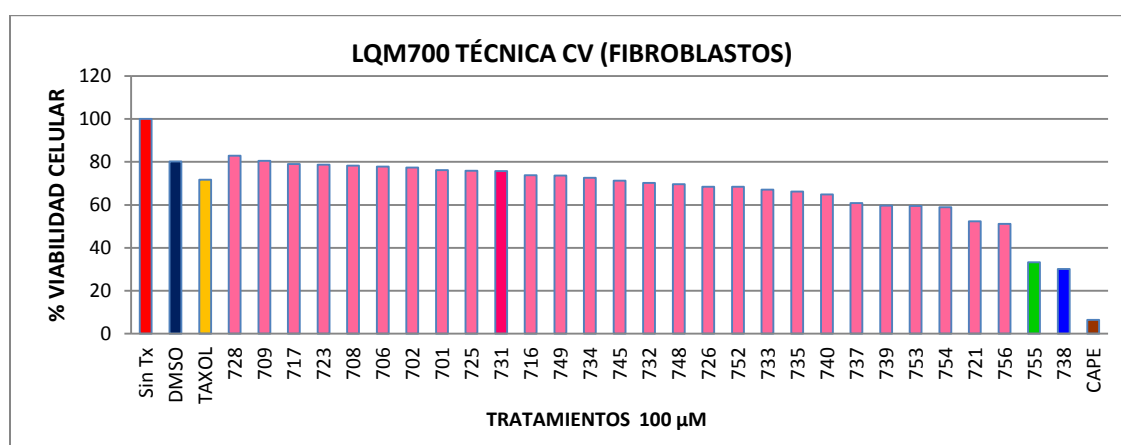
En la Figura 22 se observan los porcentajes de viabilidad de los 30 compuestos en un cultivo primario de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) a un tiempo de exposición de 24 h, en la cual se puede ver que los compuestos LQM731, 738 y 755 presentan porcentajes de viabilidad muy aceptables, teniendo al LQM755 como el más favorable con una viabilidad de 97.17 %, seguido del 731 con una viabilidad de 90.31 % y al LQM738 con un % de viabilidad de 87.08%.



**Figura 22.** Porcentaje de viabilidad celular de un cultivo primario no canceroso (linfocitos), tratado con 30 compuestos de la serie LQM 700 expuestas por 24 h a la concentración 100  $\mu\text{M}$

### 13.2 Efecto citotóxico de los compuestos LQM700 en un tejido de células sanas (fibroblastos), evaluada con la técnica de CV

En la Figura 23 se muestran los porcentajes de viabilidad que presentaron los 30 compuestos de la serie LQM700 en un cultivo de tejido sano (fibroblastos) a un tiempo de exposición de 24 h, en el cual se puede observar que los fibroblastos fueron más susceptibles al efecto citotóxico de los compuestos, mostrando viabilidades de 33.34% para el LQM755, 30.13% para el LQM738 teniendo como excepción al LQM731 con un porcentaje de viabilidad de 77.74%, sin embargo comparando con el CAPE estos fueron mejores ya que éste mostró una viabilidad del 6.42%.



**Figura 23.** Porcentaje de viabilidad celular en un tejido de células sanas (fibroblastos), tratado con 30 compuestos de la serie LQM700 expuestas por 24 h a la concentración 100 µM

### 13.3 RESUMEN DE LOS RESULTADOS DEL TAMIZ

Con base a los resultados obtenidos en el tamiz se pudo conocer cuáles fueron los tres compuestos más citotóxicos para las tres líneas celulares cancerígenas MDA-MB 231, HeLa, y PC-3, tanto con la técnica de MTT como con la técnica de CV. Los compuestos que presentaron mayor citotoxicidad fueron el LQM731, 738 y el LQM755 por otra parte, también presentaron baja citotoxicidad del cultivo primario de células no cancerosas (linfocitos).

## 14. RESULTADOS DE LA CINÉTICA

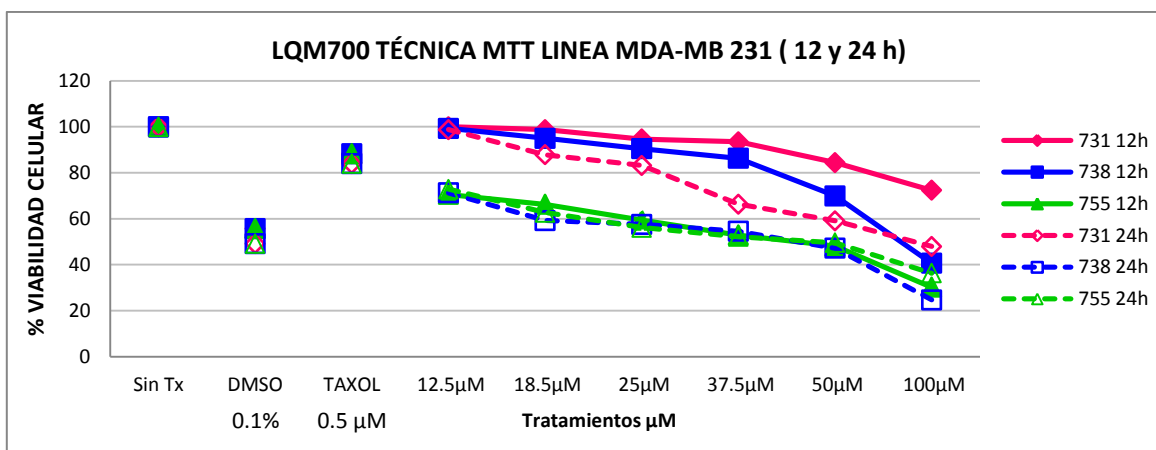
### 14.1 Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738, 755 en células cancerígenas de mama MDA-MB 231 evaluada con la técnica de MTT

En la Figura 24 se muestran los resultados de la citotoxicidad de los tres compuestos LQM731, 738, 755, evaluados con la técnica de MTT en células MDA-MB 231 a un tiempo de exposición de 12 y 24 h, en donde se observa que a un tiempo de exposición de 12 h, el LQM 755 tuvo el mayor efecto dosis respuesta a la concentración de 100  $\mu\text{M}$  obteniendo un porcentaje de viabilidad de 30.20 % seguido del LQM738 con 40.68% de viabilidad. A un tiempo de 24 h el compuesto que presentó mejor efecto dosis respuesta fue el LQM 738 con una viabilidad de 24.70%, seguido del LQM 755 obteniendo un efecto citotóxico a la misma concentración de 36.31%.

A un tiempo de 24 h, los compuesto LQM738 y 755 mostraron tener mejor efecto dosis respuesta que el taxol a todas las concentraciones evaluadas, encontrándose estos por debajo del 83.9% de la viabilidad que presenta el taxol.

**Tabla 4.** Porcentaje de viabilidad celular de la línea de cáncer de mama **MDA-MB 231** tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de MTT

COMPUESTO LQM	Sin Tx	DMSO 0.1%	Taxol 0.5 $\mu\text{M}$	TÉCNICA MTT LINEA MDA-MB 231 ( 12 y 24 h)					
				% DE VIABILIDAD					
				12.5 $\mu\text{M}$	18.5 $\mu\text{M}$	25 $\mu\text{M}$	37.5 $\mu\text{M}$	50 $\mu\text{M}$	100 $\mu\text{M}$
731-12 h	100	88.23	55.76	100	98.73	94.63	93.48	84.39	72.39
731-24 h	100	49.24	83.99	98.73	87.79	83.13	66.30	59.11	47.99
738-12 h	100	88.23	55.76	99.33	95	90.46	86.29	69.97	40.68
738-24 h	100	49.24	83.99	71.26	59.21	57.56	54.54	47.17	24.70
755-12 h	100	88.23	55.76	70.57	66.24	59.38	52.93	48.08	30.20
755-24 h	100	49.24	83.99	72.86	62.71	56.13	52.22	49.56	36.31



**Figura 24.** Porcentaje de viabilidad celular de la línea neoplásica **MDA-MB 231**, tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50, y 100 µM evaluada con la técnica de MTT.

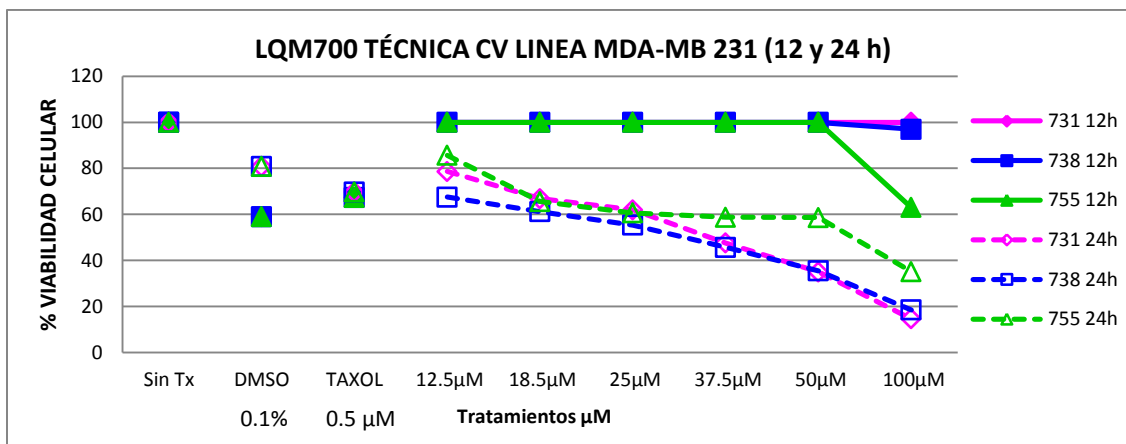
#### 14.2 Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738, 755, en células cancerígenas de mama MDA-MB 231 evaluada con la técnica de CV

En la Figura 25 se muestran los resultados de la citotoxicidad de los tres compuestos LQM731, 738, 755, evaluados con la técnica de CV en células MDA-MB231 a un tiempo de exposición de 12 y 24 h, en donde se observa que a un tiempo de exposición de 12 h, el LQM 755 tuvo el mayor efecto dosis respuesta a la concentración de 100 µM obteniendo un porcentaje de viabilidad de 62.96%.

A un tiempo de 24 h, los compuestos que presentaron el mejor efecto dosis respuesta a la concentración de 100µM fue el LQM 731 con una viabilidad de 14.64% y LQM738 con una viabilidad de 18.47%, sin descartar al LQM755 quien mostró una viabilidad de 35.12%.

**Tabla 5.** Porcentaje de viabilidad celular de la línea de cáncer de mama **MDA-MB 231** tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de MTT

COMPUESTO LQM	Sin Tx	DMSO 0.1%	Taxol 0.5 µM	TÉCNICA CV LINEA MDA-MB 231 ( 12 y 24 h)					
				% DE VIABILIDAD					
				12.5µM	18.5µM	25µM	37.5µM	50µM	100µM
731-12 h	100	59.01	67.30	100	100	100	100	100	100
731-24 h	100	80.87	69.64	78.65	66.79	61.92	47.58	34.94	14.64
738-12 h	100	59.01	67.30	100	100	100	100	100	97
738-24 h	100	80.87	69.64	67.54	61.19	55.35	45.67	35.43	18.47
755-12 h	100	59.01	67.30	100	100	100	100	100	62.96
755-24 h	100	80.87	69.64	85.62	65.53	60.65	58.77	58.62	35.12



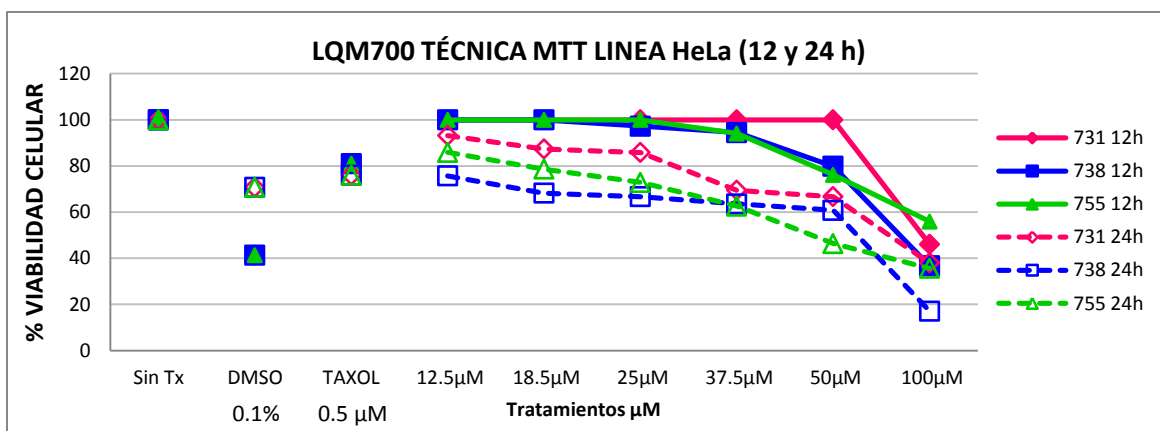
**Figura 25.** Porcentaje de viabilidad celular de la línea neoplásica **MDA-MB 231**, tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50, y 100 µM evaluada con la técnica de CV

### 14.3 Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738, 755, en células cancerígenas de cérvix HeLa evaluada con la técnica de MTT

En la Figura 26 se muestran los resultados de la citotoxicidad de los tres compuestos LQM731, 738, 755, evaluados con la técnica de MTT en células HeLa a un tiempo de exposición de 12 y 24 h, en donde se observa que a un tiempo de exposición de 12 h, el LQM 738 tuvo el mayor efecto dosis respuesta a la concentración de 100 µM obteniendo un porcentaje de viabilidad de 36.75 %, seguido del LQM731 con 46.10%, sin descartar que el LQM755 también tuvo un buen efecto dosis respuesta de 55.92% de viabilidad. A un tiempo de 24 h el compuesto que presentó mejor efecto dosis respuesta a la concentración de 100 µM, fue el LQM 738 con una viabilidad de 17.10%, seguido del LQM 755 obteniendo un efecto citotóxico de un 35.65% y el LQM731 con un porcentaje de viabilidad de 37.99%.

**Tabla 6.** Porcentaje de viabilidad celular de la línea de cáncer de cérvix **HeLa** tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de MTT

COMPUESTO LQM	Sin Tx	DMSO 0.1%	Taxol 0.5 µM	TÉCNICA MTT LINEA HeLa ( 12 y 24 h)					
				% DE VIABILIDAD					
				12.5µM	18.5µM	25µM	37.5µM	50µM	100µM
731-12 h	100	41.39	81.02	100	100	100	100	100	46.10
731-24 h	100	70.79	75.99	93.19	87.35	85.81	69.46	66.66	37.99
738-12 h	100	41.39	81.02	100	100	97.28	94.49	79.82	36.75
738-24 h	100	70.79	75.99	75.69	68.23	66.65	63.58	60.82	17.10
755-12 h	100	41.39	81.02	100	100	100	94.06	76.15	55.92
755-24 h	100	70.79	75.99	85.88	78.62	72.88	62.57	46.36	35.65



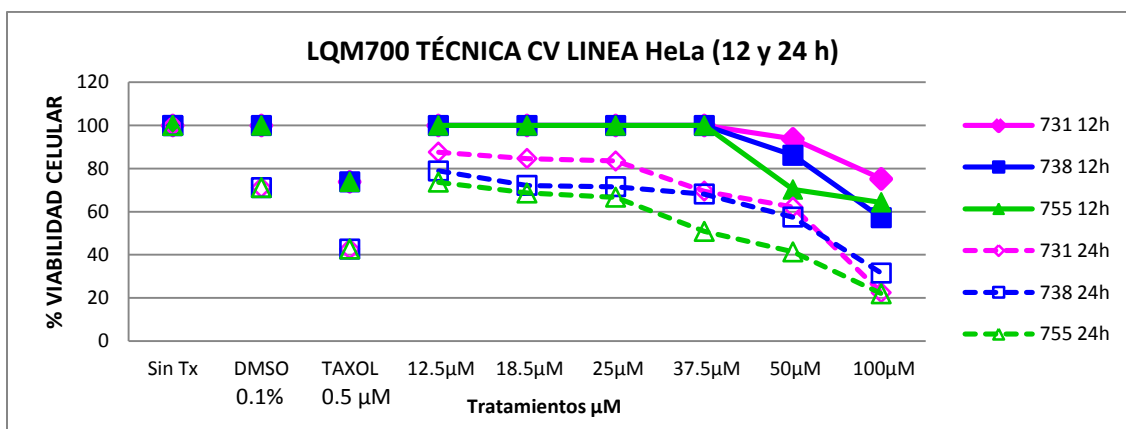
**Figura 26.** Porcentaje de viabilidad celular de la línea neoplásica **HeLa**, tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50, y 100 µM evaluada con la técnica de MTT.

#### 14.4 Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738, 755, en células cancerígenas de cérvix HeLa evaluada con la técnica de CV

En la Figura 27 se muestran los resultados de la citotoxicidad de los tres compuestos LQM731, 738, 755, evaluados con la técnica de CV en células HeLa a un tiempo de exposición de 12 y 24 h, en donde se observa que a un tiempo de exposición de 12 h, el LQM 738 tuvo el mayor efecto dosis respuesta a la concentración de 100 µM obteniendo un porcentaje de viabilidad de 57.12%. A un tiempo de 24 h el compuesto que presentó mejor efecto dosis respuesta a la concentración de 100 µM fue el LQM 755 con una viabilidad de 21.90%, seguido del LQM 731 obteniendo un efecto citotóxico de 22.40% y el LQM738 con un % de viabilidad de 31.49%.

**Tabla 7.** Porcentaje de viabilidad celular de la línea de cáncer de cérvix **HeLa** tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de CV

COMPUESTO LQM	Sin Tx	DMSO 0.1%	Taxol 0.5 µM	TÉCNICA CV LINEA HeLa ( 12 y 24 h)					
				% DE VIABILIDAD					
				12.5µM	18.5µM	25µM	37.5µM	50µM	100µM
731-12 h	100	100	73.84	100	100	100	100	93.71	75.17
731-24 h	100	71.12	42.56	87.54	84.61	83.52	69.43	62.12	22.40
738-12 h	100	100	73.84	100	100	100	100	86.16	57.12
738-24 h	100	71.12	42.56	78.87	72.15	71.53	68.12	57.43	31.49
755-12 h	100	100	73.84	100	100	100	100	70.29	64.25
755-24 h	100	71.12	42.56	73.59	68.66	66.67	50.80	41.33	21.90



**Figura 27.** Porcentaje de viabilidad celular de la línea neoplásica **HeLa**, tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50 y 100 µM evaluada con la técnica de CV

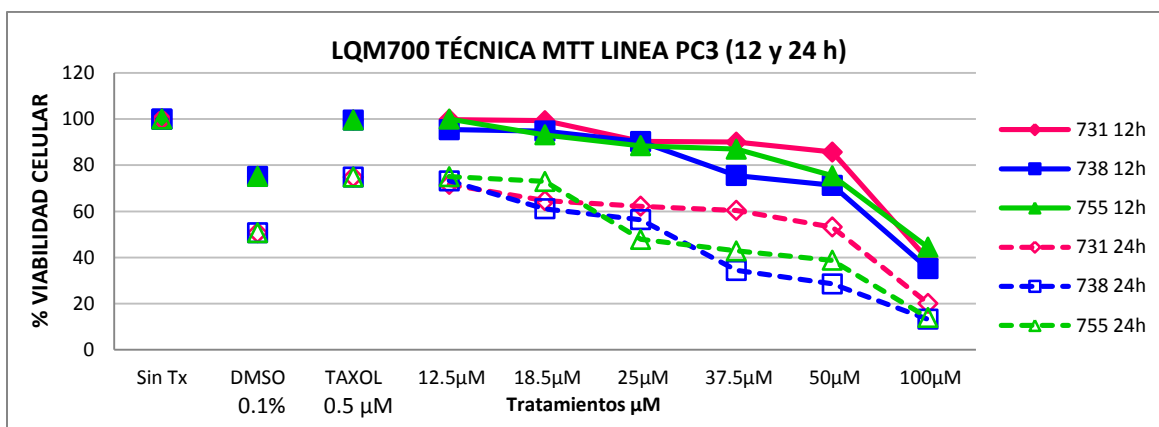
#### 14.5 Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738, 755, en células cancerígenas de próstata PC-3 evaluada con la técnica de MTT

En la Figura 28 se muestran los resultados de la citotoxicidad de los tres compuestos LQM731, 738 y 755, evaluados con la técnica de MTT en células PC-3 a un tiempo de exposición de 12 y 24 h, en donde se observa que a un tiempo de exposición de 12 h, el LQM 738 tuvo el mayor efecto dosis respuesta a la concentración de 100 µM obteniendo un porcentaje de viabilidad de 35.23% seguido del LQM731 con 39.15%, sin descartar que el LQM755 también tuvo un buen efecto dosis respuesta de 44.45% de viabilidad.

A un tiempo de 24 h, los compuestos que presentaron mejor efecto dosis respuesta a la concentración de 100 µM, fue el LQM 738 y 755 con una viabilidad de 13%, seguido del LQM 731 mostrando un efecto citotóxico de 20.10%.

**Tabla 8.** Porcentaje de viabilidad celular de la línea de cáncer de próstata **PC-3** tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, expuesta por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de MTT

COMPUESTO LQM	Sin Tx	DMSO 0.1%	Taxol 0.5 µM	TÉCNICA MTT LINEA PC-3 ( 12 y 24 h)					
				% DE VIABILIDAD					
				12.5µM	18.5µM	25µM	37.5µM	50µM	100µM
731-12 h	100	75.10	99.51	99.76	99.25	90.24	90.01	85.67	39.15
731-24 h	100	50.72	74.79	71.58	64.63	62.15	60.39	53.19	20.10
738-12 h	100	75.10	99.51	95.38	94.79	90.16	75.50	71.25	35.23
738-24 h	100	50.72	74.79	73.21	61.05	56.35	34.39	28.52	13.23
755-12 h	100	75.10	99.51	100	93.08	88.41	86.90	75.44	44.45
755-24 h	100	50.72	74.79	74.98	72.91	47.85	42.81	38.74	13.94



**Figura 28.** Porcentaje de viabilidad celular de la línea neoplásica **PC-3**, tratada con los compuestos LQM 731, 738 y 755, expuesta por 12 y 24 h a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50 y 100 µM evaluada con la técnica de MTT

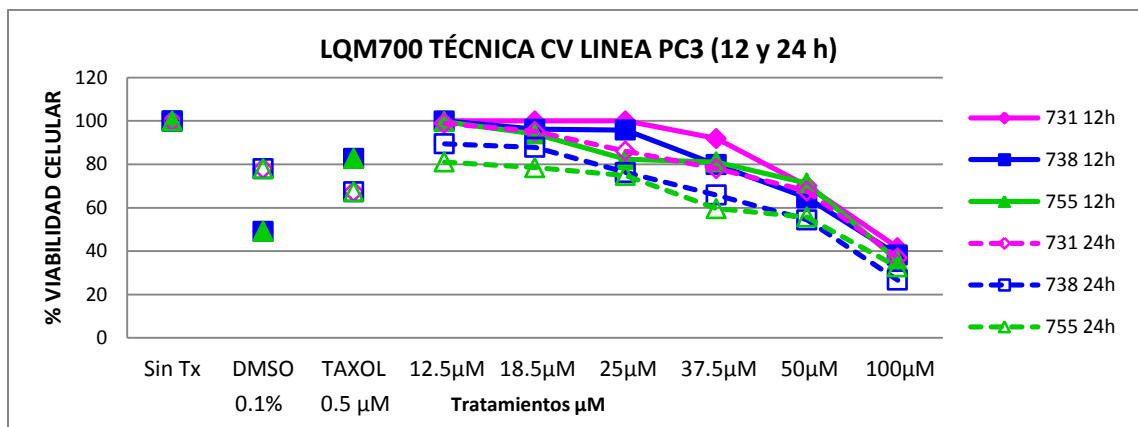
#### 14.6 Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738, 755, en células cancerígenas de próstata PC-3 evaluada con la técnica de CV

En la Figura 29 se muestran los resultados de la citotoxicidad de los tres compuestos LQM731, 738, 755, evaluados con la técnica de CV en células PC-3 a un tiempo de exposición de 12 y 24 h, en donde se observa que a un tiempo de exposición de 12 h, el LQM 755 tuvo el mayor efecto dosis respuesta a la concentración de 100 µM obteniendo un porcentaje de viabilidad de 35.56% , seguido del LQM738 con 38.18%, sin descartar que el LQM731 también tuvo un buen efecto dosis respuesta de 41.63% de viabilidad. A un tiempo de 24 h el compuesto que mostró mejor efecto dosis respuesta a la concentración de 100 µM fue el LQM 738 con una viabilidad de 26.64%, seguido del LQM 755 obteniendo un efecto citotóxico de un 32.65% y el LQM731 con un porcentaje de viabilidad de 36.85%.

**Tabla 9.** Porcentaje de viabilidad celular de la línea de cáncer de próstata **PC-3** tratada con los compuestos LQM 731, 738 y 755, expuesta por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de CV

COMPUESTO LQM	Sin Tx	DMSO 0.1%	Taxol 0.5 µM	TÉCNICA CV LINEA PC-3 ( 12 y 24 h)					
				% DE VIABILIDAD					
				12.5µM	18.5µM	25µM	37.5µM	50µM	100µM
731-12 h	100	49.03	82.68	100	100	100	91.93	70.16	41.63
731-24 h	100	78.07	67.37	98.94	95.17	86.06	78.03	67.70	36.85
738-12 h	100	49.03	82.68	100	96.17	95.83	79.90	64.61	38.18
738-24 h	100	78.07	67.37	89.45	87.87	76.25	65.88	54.42	26.64
755-12 h	100	49.03	82.68	99.64	94.03	82.31	81.10	71.33	35.56
755-24 h	100	78.07	67.37	81.07	78.52	74.87	59.58	55.72	32.65





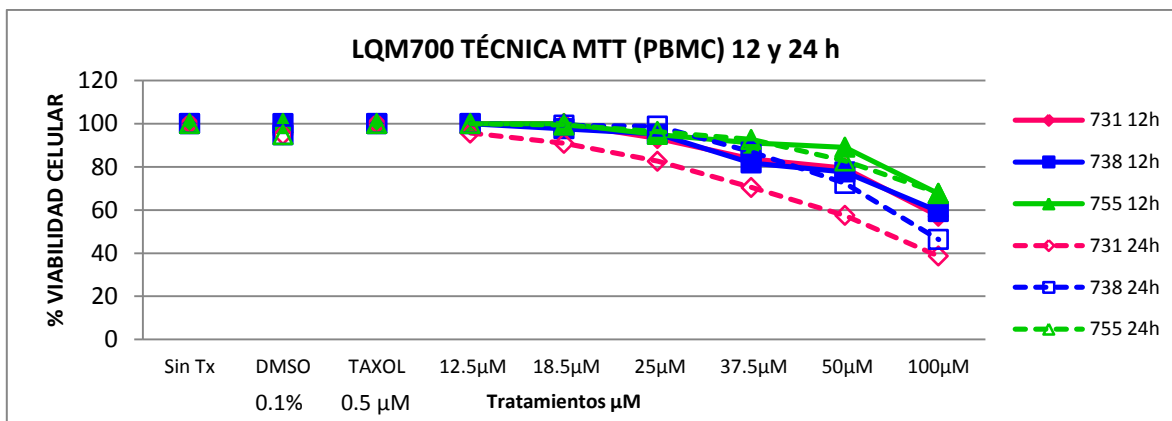
**Figura 29.** Porcentaje de viabilidad celular de la línea neoplásica PC-3, tratada con los compuestos LQM 731, 738 y 755, expuesta por 12 y 24 h a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50, y 100  $\mu\text{M}$  evaluada con la técnica de CV

#### 14.7 Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738 y 755 en células mononucleares de sangre periférica (PBMC), evaluada con la técnica de MTT

En la Figura 30 se muestran los resultados de la citotoxicidad de los tres compuestos LQM731, 738 y 755, evaluados mediante el ensayo de MTT en un cultivo de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) a un tiempo de 12 y 24 h, en donde se puede apreciar que en ambos tiempos, la concentración que más afecta a las células sanas es 100  $\mu\text{M}$ , mostrando el compuesto LQM731 el mayor efecto dosis respuesta con el porcentaje de viabilidad más bajo de 38.67% a las 24 h, el compuesto que mostró las viabilidades más altas a los 2 tiempos fue el LQM755 lo cual indica que no hubo mucho daño a las células sanas. La Tabla 10, muestra el promedio de los valores obtenidos al calcular el porcentaje de viabilidad de los tres experimentos independientes usando como control negativo al DMSO 0.1% y como control positivo al taxol 0.5 $\mu\text{M}$ .

**Tabla 10.** Porcentaje de viabilidad de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) tratadas con los compuestos LQM 731, 738 y 755, expuesta por 12y 24 h, evaluada con la técnica de MTT

COMPUESTO LQM	Sin Tx	DMSO 0.1%	Taxol 0.5 $\mu\text{M}$	TÉCNICA MTT (PBMC) 12 y 24 h					
				% DE VIABILIDAD					
				12.5 $\mu\text{M}$	18.5 $\mu\text{M}$	25 $\mu\text{M}$	37.5 $\mu\text{M}$	50 $\mu\text{M}$	100 $\mu\text{M}$
731-12 h	100	100	100	100	100	93.14	83.69	79.44	57.12
731-24 h	100	94.81	100	95.62	90.88	82.57	70.43	57.45	38.67
738-12 h	100	100	100	100	97.63	95.18	81.77	77.64	59.33
738-24 h	100	94.81	100	100	99.31	98.88	86.94	72.37	46.32
755-12 h	100	100	100	100	100	95.00	91.05	89.07	67.53
755-24 h	100	94.81	100	100	99.38	96.30	92.72	82.78	67.78



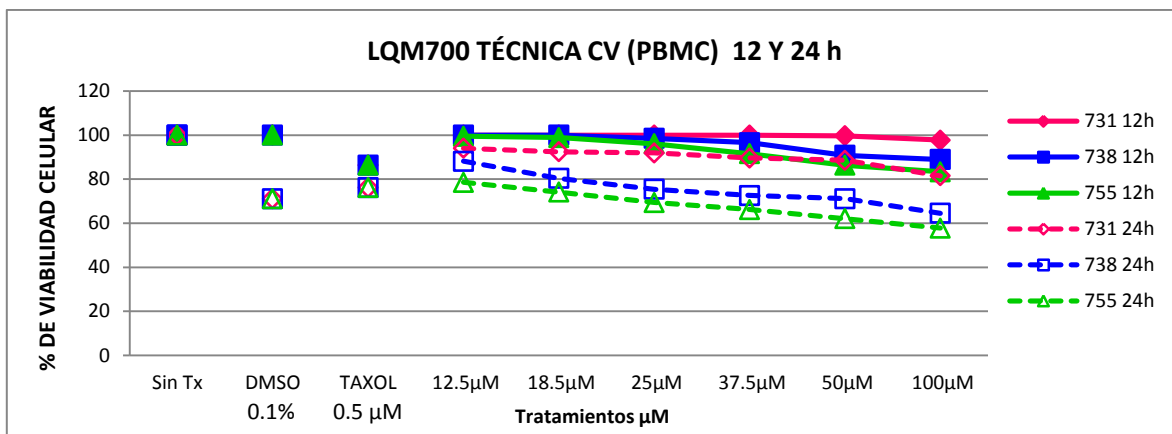
**Figura 30.** Porcentaje de viabilidad de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) tratada con los compuestos LQM 731, 738 y 755, a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50, y 100 µM, expuesta por 12 y 24h, evaluada con la técnica de MTT

### 14.8 Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738 y 755 en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) evaluada con la técnica de CV

En la Figura 31 se muestran los resultados de la citotoxicidad de los tres compuestos LQM, evaluados mediante el ensayo de CV en un cultivo de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) a un tiempo de 12 y 24 h, en donde se puede apreciar que al tiempo de 12 h se obtienen los porcentajes de viabilidad más altos que van de 88 a 100 %, esto es igual a que no hay un daño significativo en las células sanas. A un tiempo de 24 h el compuesto que mostró mayor efecto citotóxico a las células sanas en todas las concentración fue el LQM 755 con viabilidades por debajo del 78% y con el compuesto que no presento mayor daño a los linfocitos a un tiempo de 24 h fue el LQM731 con viabilidades por arriba del 81.55%.

**Tabla 11.** Porcentajes de viabilidad de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) tratadas con los compuestos LQM 731, 738 y 755, expuesta por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de CV

COMPUESTO LQM	Sin Tx	DMSO 0.1%	Taxol 0.5 µM	TÉCNICA CV (PBMC) 12 y 24 h					
				% DE VIABILIDAD					
				12.5µM	18.5µM	25µM	37.5µM	50µM	100µM
731-12 h	100	100	86.41	100	100	100	100	99.69	97.72
731-24 h	100	71.15	76.23	94.01	92.40	91.91	89.62	88.60	81.55
738-12 h	100	100	86.41	100	100	98.55	96.55	90.80	88.95
738-24 h	100	71.15	76.23	88.16	80.37	75.40	72.60	71.12	64.52
755-12 h	100	100	86.41	99.44	98.92	96.05	91.58	86.31	83.35
755-24 h	100	71.15	76.23	78.54	74.08	69.39	66.19	62.02	57.75



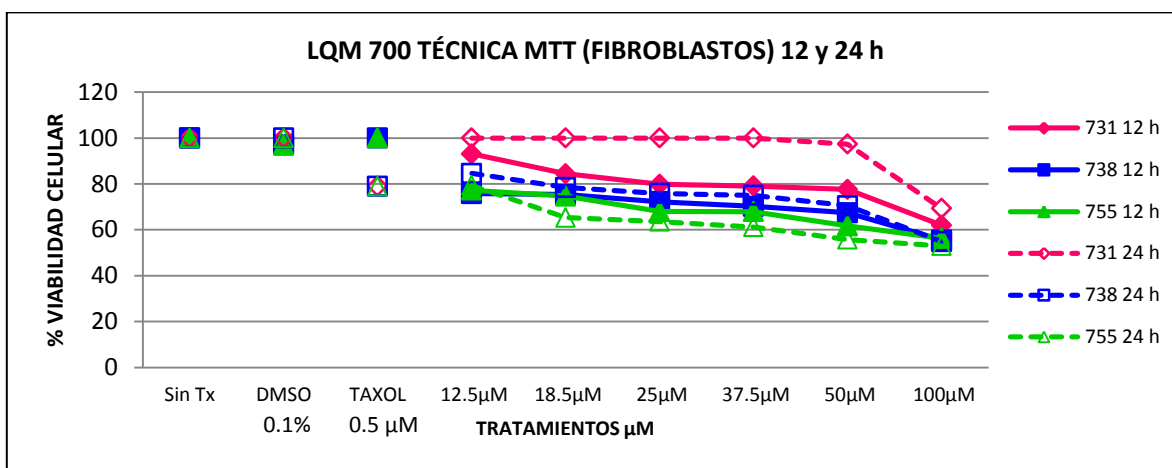
**Figura 31.** Porcentaje de viabilidad de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755 a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50, y 100 µM, expuesta por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de CV

#### 14.9 Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738 y 755 en un tejido de células sanas (fibroblastos), evaluada con la técnica de MTT

En la Figura 32 se muestran los resultados de la citotoxicidad de los tres compuestos LQM, evaluados mediante el ensayo de MTT en un tejido de células sanas (fibroblastos), a un tiempo de 12 y 24 h, en donde se puede apreciar que a un tiempo de 12 horas, los compuestos LQM731 y 738 presentan mayor efecto citotóxico a las 12 h mostrando porcentajes de viabilidad más bajas que a las 24 h, lo cual nos indica que los compuestos presentaron su mayor efecto citotóxico. A un tiempo de 24 h el compuesto que obtuvo menos efecto citotóxico a las concentraciones de 12.5 a 50 µM fue el LQM731, mostrando viabilidades de 100 y 97.31% y el compuesto que presentó mayor efecto dosis respuesta a los fibroblastos fue el compuesto LQM755 con viabilidades del 79 al 52.9%

**Tabla 12.** Porcentajes de viabilidad celular en un tejido de células sanas (fibroblastos), tratada con los compuestos LQM 731, 738 y 755 expuestas por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de MTT

COMPUESTO LQM	Sin Tx	DMSO 0.1%	Taxol 0.5 µM	TÉCNICA MTT (FIBROBLASTOS) 12 y 24 h					
				% DE VIABILIDAD					
				12.5µM	18.5µM	25µM	37.5µM	50µM	100µM
731 12 h	100	97.03	100	93.07	84.46	79.82	79.08	77.60	61.94
731 24 h	100	100	78.96	100	100	100	100	97.31	69.33
738 12 h	100	97.03	100	75.79	75.38	72.21	70.19	67.44	55.96
738 24 h	100	100	78.96	84.54	78.42	75.85	75.01	70.49	54.88
755 12 h	100	97.03	100	77.26	74.69	67.97	67.90	61.71	56.27
755 24 h	100	100	78.96	79.36	65.32	63.59	61.20	55.79	52.94



**Figura 32.** Porcentaje de viabilidad celular en un tejido de células sanas (fibroblastos), tratada con los compuestos LQM 731, 738, 755, a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50, y 100 µM, expuestas por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de MTT

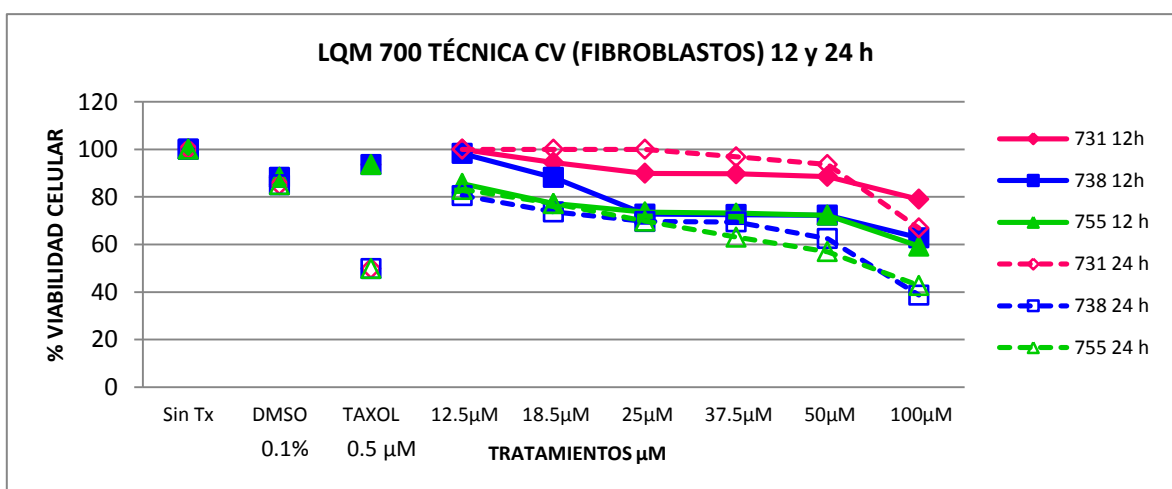
### 15. Citotoxicidad de los compuestos LQM731, 738 y 755 en un tejido de células sanas (fibroblastos), evaluada con la técnica de CV

En la Figura 33 se muestran los resultados de la citotoxicidad de los tres compuestos LQM, evaluados mediante el ensayo de CV en un tejido de células sanas (fibroblastos), a un tiempo de 12 y 24 h, en donde se puede apreciar que el compuesto LQM731 presenta mayor efecto citotóxico a un tiempo de 12 horas que a 24 h en las concentraciones de 12.5 a 50 µM. Este mismo tuvo menos efecto citotóxico a las concentraciones de 12.5 a 50 µM a las 24 h, mostrando viabilidades de 100 y 93.63%, comparado con el taxol que es el control positivo del experimento el LQM731 mostró ser menos dañino para el tejido sano ya que el taxol presentó una viabilidad del 49.79%, inferior al valor que presenta el LQM731 a la concentración más alta.

Los compuestos que mostraron mayor efecto dosis respuesta a las concentraciones más alta fueron el compuesto LQM738 con una viabilidad del 38.68% y el LQM755 con un porcentaje de viabilidad del 42.75%, sin embargo ambos a la concentración de 50 µM presentan mejores porcentajes de viabilidad que el taxol.

**Tabla 13.** Porcentajes de viabilidad celular en un tejido de células sanas (fibroblastos), tratada con los compuestos LQM 731, 738 y 755 expuestas por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de CV

COMPUESTO LQM	Sin Tx	DMSO 0.1%	Taxol 0.5 μM	TÉCNICA CV (FIBROBLASTOS) 12 y 24 h					
				% DE VIABILIDAD					
				12.5μM	18.5μM	25μM	37.5μM	50μM	100μM
731 12 h	100	88.14	93.66	100	94.50	89.91	89.72	88.58	79.04
731 24 h	100	85.11	49.79	100	100	100	96.88	93.63	66.93
738 12 h	100	88.14	93.66	98.30	88.18	72.74	72.57	72.32	62.77
738 24 h	100	85.11	49.79	80.54	73.68	69.69	69.45	62.47	38.68
755 12 h	100	88.14	93.66	85.65	77.23	73.66	73.19	72.30	59.33
755 24 h	100	85.11	49.79	83.10	77.18	69.78	63.07	56.97	42.75



**Figura 33.** Porcentaje de viabilidad celular en un tejido de células sanas (fibroblastos), tratada con los compuestos LQM 731, 738 y 755, a las concentraciones de 12.5, 18.5, 25, 37.5, 50, y 100 μM, expuestas por 12 y 24 h, evaluada con la técnica de MTT

## 16. Cálculo de la IC<sub>50</sub>

Una vez evaluado el efecto citotóxico de los compuestos LQM731,738 y 755, se procedió a calcular la concentración inhibitoria al 50 por ciento (IC<sub>50</sub>) de cada uno de ellos en las diferentes líneas celulares neoplásicas, así como en las células sanas (linfocitos y fibroblastos), evaluadas con las técnicas de MTT y CV a tiempos de exposición 12 y 24 h, con el fin de obtener la concentración optima a la cual los compuestos inhibe el 50% de la población celular y así deducir cuál de estos tres compuestos es el más efectivo sobre las células cancerígenas y menos citotóxico en las células sanas. Los resultados, se muestran en el Tabla 14.

**Tabla 14.** IC<sub>50</sub> de los compuestos LQM731, 738,755 para las tres líneas celulares neoplásicas MDA-MB 231, HeLa y PC-3 así como para el cultivo primario de células sanas (linfocitos) y tejido sano (fibroblastos) a los tiempos de exposición de 12 y 24 h

LÍNEA	TIEMPO (h)	IC <sub>50</sub> LQM ( μM )					
		731		738		755	
		MTT	CV	MTT	CV	MTT	CV
MDA-MB 231	12	314.8	3.21E+15	126	8084	39.04	372.8
	24	92.49	32.89	35.52	28.19	39.48	51.57
HeLa	12	249.5	490.9	155	258.3	205.3	238.8
	24	91.2	70.82	48.04	59.02	57.62	37.71
PC-3	12	155.2	148.7	106.2	114.4	138.2	107.5
	24	41.19	105.6	25.04	65.16	29.78	58.94
LINFOCITOS	12	185	6127	184.4	790.6	294	457.1
	24	85.39	377.7	153.6	119.3	275.3	78.62
FIBROBLASTOS	12	146.9	360.5	86.94	128.5	77.61	107.8
	24	431.2	356.4	103	69.27	59.43	63.09

## 16.1 RESULTADOS DE LA IC<sub>50</sub> PARA ENSAYO MTT

El compuesto que obtuvo el mejor valor de la IC<sub>50</sub> para la línea celular **MDA-MB 231** en el ensayo colorimétrico de **MTT** a un tiempo de **12 h** fue el **LQM 755** con una IC<sub>50</sub> de **39.04 μM** para las líneas celular **HeLa** y **PC-3** no hubo efecto citotóxico a ese mismo tiempo ya que se observan viabilidades arriba de **100 μM**.

En el cultivo de células sanas (**PBMC**) al tiempo de **12 h**, los tres compuestos no mostraron citotoxicidad ya que se observan concentraciones inhibitorias por arriba de los **100 μM**. Para fibroblastos el compuesto que no presento citotoxicidad fue el **LQM731** obteniendo un valor de IC<sub>50</sub> de **146 μM** comparado con el compuesto **LQM738** que fue ligeramente citotóxico dando una IC<sub>50</sub> de **86.94 μM** y el **LQM755** con una IC<sub>50</sub> de **77.31μM**.

Los compuestos que obtuvieron el mejor valor de la IC<sub>50</sub> para la línea celular **MDA-MB 231** en el ensayo colorimétrico de **MTT** a un tiempo de **24h** fue el **LQM 738** con una IC<sub>50</sub> de **35.52μM** y el **LQM755** con una IC<sub>50</sub> de **39.48 μM**, de igual forma estos mismos compuestos presentaron una considerable concentración inhibitoria para la línea celular **HeLa** el **LQM738** mostro un valor de IC<sub>50</sub> de **48.04 μM** y el **LQM755** una IC<sub>50</sub> de **57.62 μM**, y para la línea **PC-3** los tres compuestos obtuvieron valores considerables de IC<sub>50</sub>, el **LQM731** obtuvo un valor de IC<sub>50</sub> de **41.19 μM**, **LQM738** obtuvo un valor de **25.04 μM** y el **LQM755** fue de **29.78 μM**.

En el cultivo primario de células sanas (**PBMC**) al tiempo de **24h**, los compuestos que no mostraron citotoxicidad fueron, el **LQM738** y **LQM755** ya que se observan concentraciones inhibitorias por arriba de los **100 μM**, por el contrario el compuesto **LQM731** mostro una ligera citotoxicidad con un valor de IC<sub>50</sub> de **85.39 μM**. Para fibroblastos los compuestos que no presentaron citotoxicidad fueron el **LQM731** y el **LQM738** obteniendo un valor de IC<sub>50</sub> por arriba de **100 μM** por el contrario el compuesto que presento citotoxicidad fue el **LQM755** mostrando una IC<sub>50</sub> de **59.43 μM**.

## 16.2 RESULTADOS DE LA IC<sub>50</sub> PARA ENSAYO CRISTAL VIOLETA

Los resultados obtenidos para la técnica de **CV** a un tiempo de **12h** son los siguientes: Para todas las líneas celulares cancerígenas, ninguno de los compuestos presento citotoxicidad ya que estos mostraron valores de **IC<sub>50</sub>** por arriba de los **100µM**.

En el cultivo primario de células sanas (**PBMC**) al tiempo de **12h**, los tres compuestos no mostraron citotoxicidad ya que se observan concentraciones inhibitorias por arriba de los **100 µM**, de igual forma para fibroblastos ninguno de los compuesto presento.

En el ensayo colorimétrico de **CV** a un tiempo de **24h** en la línea celular **MDA-MB 231**, los tres compuestos mostraron concentraciones inhibitorias aceptables, para el **LQM731** la **IC<sub>50</sub>** fue de **32.89 µM**, para el **LQM738**, **28.19 µM** y para el **LQM755** la **IC<sub>50</sub>** fue de **51.57 µM**. Para la línea celular **HeLa** los compuestos que presentaron concentración inhibitoria aceptable fueron el **LQM738** con una **IC<sub>50</sub>** de **59.02** y el **LQM755** con una **IC<sub>50</sub>** de **37.71**. De igual forma para la línea celular **PC-3** los compuestos que presentaron la mejor concentración inhibitoria fueron; el **LQM738** con una **IC<sub>50</sub>** de **65.16 µM** y el **LQM755** con una **IC<sub>50</sub>** **58.94 µM**

En el cultivo primario de células sanas (**PBMC**) al tiempo de **24h**, los compuestos que no mostraron citotoxicidad fueron, el **LQM731** y **LQM738** ya que se observan concentraciones inhibitorias por arriba de los **100 µM**, por el contrario el compuesto **LQM755** mostro citotoxicidad con un valor de **IC<sub>50</sub>** de **78.62 µM**. Para fibroblastos el compuestos que no presentaron citotoxicidad fue el **LQM731** obteniendo un valor de **IC<sub>50</sub>** por arriba de **100 µM** por el contrario los compuestos que presentaron citotoxicidad fueron; el **LQM738** y **LQM 755**, mostrando concentraciones por debajo de los **100 µM**.



## 17. DISCUSIÓN

La historia de los medicamentos se remonta a los orígenes de la sociedad humana. Desde los primeros tiempos el hombre acudió a la naturaleza para obtener sustancias que le ayudaran a calmar su dolor, a síntomas de sus enfermedades o bien le facilitara la obtención de sus alimentos. Esta historia previa es la causa de que en la actualidad el modelo con el que hoy se cuenta para desarrollar nuevos fármacos es de origen natural. Modelos que obtenidos a partir de una planta u organismo vivo, han sufrido diferentes modificaciones estructurales y moleculares, encaminadas a obtener moléculas más potentes y menos tóxicas que las originales; para esto es necesario tener bases bioquímicas suficientemente sólidas que puedan sustentar el diseño de un medicamento eficaz y seguro.

Si se conoce la base biológica de un padecimiento o el trastorno metabólico de éste, es posible diseñar un medicamento que se aproxime a combatir el mecanismo patológico. Cuando se conoce este proceso es posible diseñar medicamentos que interactúen con la molécula responsable, para esto es necesario conocer la estructura química del compuesto, los métodos más utilizados para la caracterización de estos se encuentra la Resonancia Magnética Nuclear para  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$ , Cristalografía de Rayos X, Infrarrojo (IR) y Espectrometría de Masas.

No obstante el desarrollo alcanzado por la química computacional ha propiciado la generación de sistemas que permitan calcular la geometría y la energía molecular. Estos sistemas son capaces de generar datos con una amplia aplicación en la investigación experimental, tanto para la interpretación de los resultados obtenidos y la planificación a futuro, así como para deducir información no asequible experimentalmente. Los métodos que relacionan la estructura química con la actividad biológica asistida por las computadoras son el método QSAR (Quantitative Structure – Activity) que significa Estudios Cuantitativos de relación Estructura-Actividad y los métodos de modelación Molecular.

Por medio de estos estudios fue como se lograron diseñar los compuestos análogos del CAPE pertenecientes a la serie LQM700, los cuales fueron sintetizado por el grupo del Dr. Enrique Angeles en la FES-Cuautitlán UNAM.

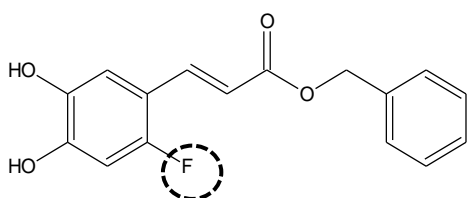
En cuanto al CAPE se refiere se ha reportado su efecto antineoplásico como supresor tumoral, agente quimiopreventivo y quimioprotector, pudiendo ser usado en enfermedades que cursen con componentes de estrés oxidativo como se ha demostrado en varios tipos de cáncer.

A pesar de su amplia variedad asociada a la actividad biológica que tiene el CAPE, en este trabajo solo se limitó a probar la actividad citotóxica que tiene los compuestos análogos a este a diferentes concentraciones de 12.5 a 100  $\mu\text{M}$  en tres líneas celulares cancerígenas, MDA-MB-231 (carcinoma de mama), HeLa (carcinoma de cérvix) y PC-3 (carcinoma de próstata) a un tiempo de exposición 12 y 24 h utilizando las técnicas de MTT y CV, analizando con detenimiento la relación que hay entre la actividad y su estructura molecular, en especial a las modificaciones que se le hicieron al anillo del catecol, a los sustituyentes del grupo fenetílo y a la variación del éster por una amida remplazando al átomo de oxígeno por uno de nitrógeno.

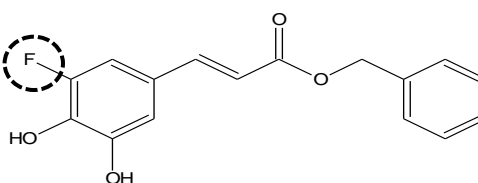
Para entender mejor el origen del efecto citotóxico de la estructura del CAPE fueron sintetizados una serie de compuestos análogos con diferentes modificaciones en su estructura, esperando encontrar información que ayude a comprender la relación que hay entre la estructura y su actividad citotóxica, así también encontrar compuestos que potencialicen el efecto. Se consideraron sustituyentes como los halógenos que ejercieran efecto inductivo en el anillo del catecol disminuyendo la densidad electrónica en el sistema conjugado de la molécula, sustituyentes como el hidroxilo presentes en el anillo del catecol ya que estos jugarían un papel importante en la actividad antioxidante, sin dejar de considerar la posición que ocuparían estos en el anillo, ya que dependiendo de esto los compuestos LQM presentarían mayor o menor citotoxicidad en las células.

Una de las primeras modificaciones que se le hicieron a la molécula de CAPE fue en el 2006 por Xingu Wan et al, en USA en donde incorporaron al flúor en diferentes posiciones del anillo del catecol mostrando que estos análogos tuvieron mejor efecto citotóxico que el CAPE en la línea celular de cordón umbilical HUVEC. Los compuestos análogos identificados como 3e, 3b y 3f mostraron efecto citotóxico de forma dosis dependiente a la concentración más alta que fue de 15  $\mu\text{M}$  con un tiempo de exposición de 24 horas dando porcentajes de viabilidad de 32, 48 y 28 % respectivamente.

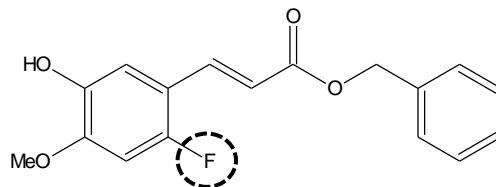
**3e**



**3b**



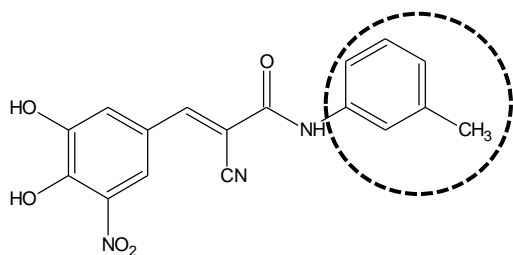
**3f**



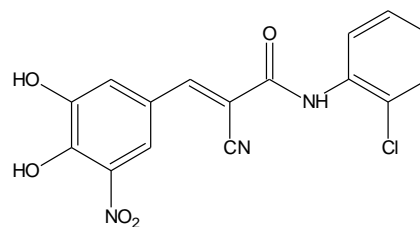
Los estudios de este artículo fundamentan el por qué fueron adicionados diversos halógenos en diferentes posiciones a las moléculas análogas al CAPE probadas en este proyecto ya que se demuestra que estos sustituyentes si influyen en el efecto citotóxico.

Wei Zhou et al, (2009) en China probaron el efecto antitumoral de amidas derivadas del Ácido Caféico en carcinoma gástrico humano (BGC-823), carcinoma nasofaríngea (KB) y hepatoma humano BEL-7402 en el cuál se demostró que las moléculas que tenían grupos funcionales aromáticos unidos al nitrógeno de la amida (átomo de enlace) fueron más favorables en la actividad inhibitoria que las moléculas que tenían como sustituyentes a grupos alifáticos y alicíclicos

**1b**

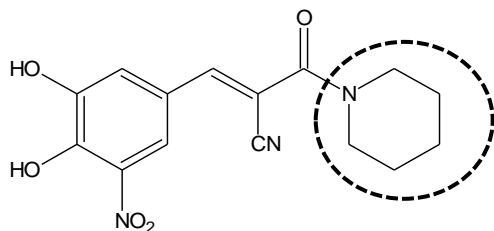


**1e**

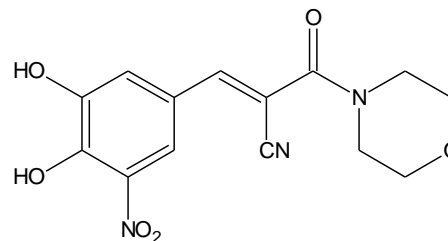


*Compuestos que presentaron mayor citotoxicidad*

**1h**



**1i**



*Compuestos que presentaron menor citotoxicidad*

Comparando su estructura con los valores de la IC<sub>50</sub> de los compuestos **1b** y **1e** demostraron que la naturaleza y la posición del sustituyente en el fenilo, ejerció un efecto sobre la actividad inhibitoria de la molécula y el sustituyente *m*-metilo en el fenilo es más favorable que *p*-metóxi y *m* y *o*-cloro.

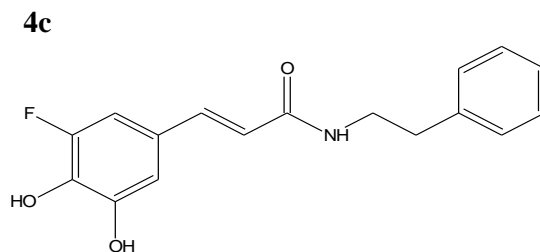
**Tabla de IC<sub>50</sub>**

Compuesto	Línea celular		
	BGC-823 µg/mL	KB µg/mL	BEL-7402 µg/mL
<b>1b</b>	5.6	13.1	12.5
<b>1h</b>	>100	>100	>100
<b>1i</b>	>100	>100	>100

Estos estudios fundamentan el motivo por el cual se conservó el grupo aromático que se encuentra unido al átomo de nitrógeno y el de manejar diferentes sustituyentes a los halógenos.

John Yang et al, (2010) en USA, también presento pruebas de citotoxicidad de la Amida Fenética del Ácido Caféico (CAPA) y análogos de esta en células endoteliales de cordón umbilical HUVEC haciendo modificaciones del flúor en el anillo del catecol. El autor menciona que remplazando un grupo hidroxilo por un flúor y un átomo de hidrogeno por un grupo metil (formando un metoxi), el compuesto desarrolla su actividad citoprotectora.

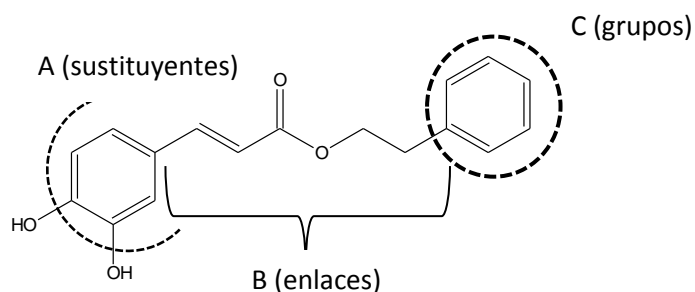
El compuesto identificado como **4c** (análogo de la CAPA) mostro mejor porcentaje de viabilidad que la CAPA en todas las concentraciones (10, 20, 40 y 60 µM) y mejor que el CAPE en las primeras tres concentraciones.



Esto demuestra que análogos de la CAPA ya han presentado buenos resultados en citotoxicidad por lo que los resultados obtenidos en este proyecto eran de esperar que manifestaran citotoxicidad en las tres líneas cancerígenas (mama, cérvix y próstata).

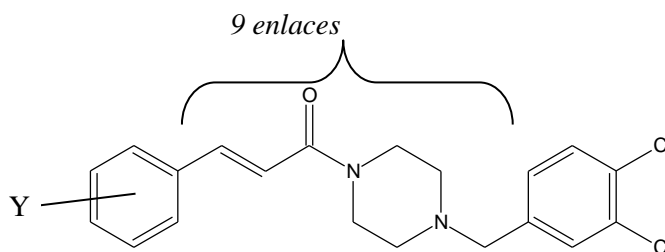
Considerando que los sustituyentes presentes en las moléculas de los compuestos LQM son diferentes a las mostradas en este artículo, cabe resaltar que los LQM738 y 755 obtuvieron mejores porcentajes de viabilidad en la línea cancerígena de próstata a las 24 h, con valores de 28.5 y 38.74% respectivamente, esto a la concentración de 50  $\mu\text{M}$  a diferencia del compuesto **4c** que obtuvo una viabilidad de 47% a una concentración de 60  $\mu\text{M}$ .

Hongbin Zou et al, (2010) en Alemania, probaron la citotoxicidad de una serie de compuestos derivados del ácido aza-caféico estudiando a detalle la relación que existía entre la estructura y la actividad biológica, en donde variaron los sustituyentes del anillo catecol (región A), el átomo de unión oxígeno por el de nitrógeno (región B) y el grupo funcional de la región C.



*Estructura del CAPE*

Los resultados mostraron que los análogos del CAPE que tienen unido a la piperazina, fueron mas citotoxicos que el mismo CAPE y el cisplatino.



Y: hidroxilo, hidrogeno, alquilo, bencilo.

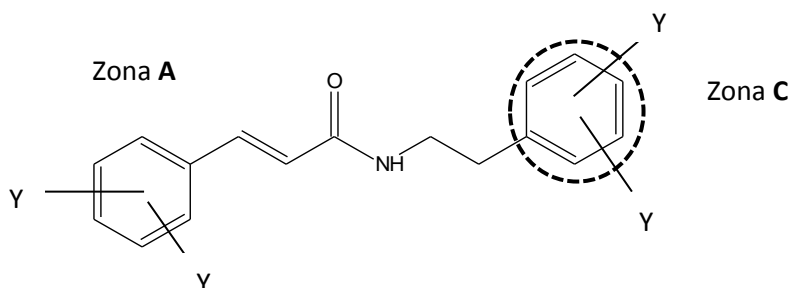
Uno de los factores por los que destacaron los compuestos LQM de este experimento comparado con los análogos mencionados por Hongbin Zou et al, es que su compuesto estrella identificado con la clave 80, que fue muy citotóxico para las líneas KB dando una  $\text{IC}_{50}$  de 0.2  $\mu\text{M}$ , BEL-7404  $\text{IC}_{50}$  de 2.0  $\mu\text{M}$ , K562,  $\text{IC}_{50}$  de 1.7  $\mu\text{M}$  y Eca 109 con una  $\text{IC}_{50}$  de 1.1  $\mu\text{M}$ , no mostraron ningún efecto citotóxico para las líneas celulares HeLa y PC-3 a un tiempo de exposición de 72 h.

Sin embargo los compuestos **LQM738** y **755** para la línea celular **HeLa** obtuvieron  $IC_{50}$  de 48.04 y de 57.63  $\mu M$  respectivamente y para la líneas celular **PC-3** los **LQM731**, **738** y **755** obtuvieron valores de  $IC_{50}$  de 41.19, 25.04 y 29.78  $\mu M$  respectivamente, a un tiempo de exposición de 24 h, es decir a un menor tiempo del que manejaron en el artículo. En lo que respecta a los resultados obtenidos de  $IC_{50}$  del **CAPE**, mostrados en el artículo de Hongbin Zou utilizando la técnica de MTT a un tiempo de exposición de 72 h son que, en la línea celular **PC-3** obtuvieron una  $IC_{50}$  de 91  $\mu M$  considerando como concentración de inactivación de 200  $\mu M$  es decir un rango más alto del que se manejó en este experimento que fue de 100  $\mu M$  como concentración más alta.

Haciendo la comparación del **CAPE** con los análogos probados en este experimento, los **LQM731**, **738** y **755** resultaron tener mejor efecto dosis respuesta obteniendo valores de  $IC_{50}$  de 41.19, 25.04, y 29.79 $\mu M$  a un tiempo de exposición de 24 h que fue menos tiempo del que estuvo expuesto el **CAPE** en el análisis que muestra Hongbin Zou que fue de 72 h. Por otra parte los **LQM738** y **755** mostraron no ser citotóxico para el cultivo primario de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) dando  $IC_{50}$  de 153.6  $\mu M$  para el **LQM738** y 275.3  $\mu M$  para el **LQM755**.

Todos estos resultados nos dan pie a que los compuestos **LQM** de la serie 700 se sigan probando en otras líneas celulares cancerígenas ya que el efecto varía dependiendo de la resistencia que muestren estas ante el compuesto. Los compuestos **LQM** mostraron ser selectivamente citotóxicos, en particular en la línea celular **PC-3** que obtuvieron concentraciones inhibitorias de 25.04  $\mu M$  para el **LQM738** y 29.78  $\mu M$  para el **LQM755** y para la línea **MDA-MB-231** dando concentraciones de 35.52  $\mu M$  para el **LQM738** y 39.48  $\mu M$  para el **LQM755**, esto con un tiempo de exposición de 24 h utilizando la técnica de MTT.

Uno de los factores que pueden influir en el efecto citotóxico que presentan los compuestos **LQM** es el hecho de que se encuentren dobles sustituyentes electronegativos en diferentes posiciones en la zona C de la molécula ya que estos pueden estar retirando densidad electrónica a la molécula haciéndola más reactiva y también que se encuentren sistemas conjugados en la región A junto a la cadena que se encuentra unido al grupo carbonilo.



Y: Halógenos, Me, MeO, Ph, EtO, OH

El mecanismo de acción de los compuestos podrán se elucidados en estudios posteriores, así también conocer la vía por el cual se esté llevando acabo la muerte celular. La citotoxicidad que presentan los compuestos LQM fue de forma dependiente a la concentración y al tiempo de exposición. Estos resultados muestran una gran posibilidad de que los compuestos LQM sean agentes antineoplásicos para cáncer de próstata, cáncer cérvicouterino y de mama.

La literatura menciona que las células cancerígenas de próstata son resistentes a la apoptosis (Kevin McEleny et al, (2004) por lo que es de gran importancia resaltar que los compuestos LQM pueden ser considerados como nuevas moléculas en desarrollo como candidatas a compuestos terapéuticos. Otras de las adjudicaciones que hace el autor Hongbin Zou en relación a la estructura-actividad que presentan los compuestos, es que a mayor número de enlaces haya de la zona “A” a la “C” mayor es la actividad citotóxica.

Jing Wo y cols. (2010) en USA hicieron estudios de citotoxicidad para el CAPE en modelo de cáncer de mama en *in vitro* en la líneas celular MDA-MB 231. El CAPE fue estudiado bajo diferentes concentraciones de 0-40  $\mu\text{M}$  utilizando el ensayo de MTT a un tiempo de exposición de 72 h. En este estudio el CAPE presento una  $\text{IC}_{50}$  de 15  $\mu\text{M}$ , comparando con los resultados que se obtuvieron en este experimento los LQM dieron valores de  $\text{IC}_{50}$  de 35.52  $\mu\text{M}$  para el **LQM738** y 39.48  $\mu\text{M}$  para el **LQM755**, si bien es cierto que los valores de  $\text{IC}_{50}$  obtenidos en este experimento son relativamente más altos que los que presenta el CAPE, en el artículo hay que considerar que el CAPE estuvo expuesto 72 h siendo el triple de tiempo en el cual estuvieron expuestos los LQM que fueron 24 h.

Para esto es recomendable en un experimento a futuro, prolongar los tiempos de exposición de los tratamientos y ver si continúa con la tendencia de ser citotóxico dependiente de la dosis y el tiempo, si es así se esperaría ver una  $\text{IC}_{50}$  menor a 15  $\mu\text{M}$  y en vista de que el CAPE muestra citotoxicidad a concentraciones bajas, los análogos LQM podrían ser probados en estudios posteriores a concentraciones menores de las que se manejaron en este experimento esperando obtener mejores resultados que los reportados con el CAPE y análogos ya estudiados.

El CAPE también ha sido evaluado en otras líneas celulares cancerígenas como SK-MEL-28, B16-F0, B16F10, SK-MEL y MeWo siendo las antes mencionadas líneas celulares de melanoma, en las cuales el CAPE mostró su citotoxicidad a diferentes concentraciones (20-200  $\mu\text{M}$ ) por un tiempo de exposición de 48 h utilizando el ensayo colorimétrico de MTT, dando un valor de  $\text{IC}_{50}$  de 15  $\mu\text{M}$ . Shashi K. Kudugunti y cols. (2011) por lo cual nosotros creemos que los

compuestos LQM pueden ser probados para otras líneas celulares cancerígenas y así ver las ventajas que presentan los compuestos LQM sobre lo ya investigado.

Finalmente se puede decir que los análogos probados en este experimento mostraron ser muy buenos posibles fármacos que combatan en cáncer de mama, cérvix y próstata, por lo que se tiene visualizado continuar con sus estudios *in vivo* y elucidar su mecanismo de acción así como también diversas pruebas biológicas.



## 18. CONCLUSIONES

- Se evaluó la actividad citotóxica de los 30 compuestos en las líneas celulares neoplásicas; MDA-MB 231 (cáncer de mama), HeLa (cáncer de cérvix) y PC-3 (cáncer de próstata) a la concentración de 100  $\mu$ M utilizando la técnica de MTT y CV.
- Se evaluó la actividad citotóxica de los 30 compuestos, en un cultivo primario de linfocitos y en fibroblastos (CCD-1079Sk).
- Se determinó la actividad citotóxica de los tres mejores compuestos análogos del CAPE, en las 3 líneas celulares neoplásicas; MDA-MB 231 (cáncer de mama), HeLa (cáncer de cérvix) y PC-3 (cáncer de próstata) a diferentes concentraciones, mediante la técnica de MTT y CV a un tiempo de exposición de 12 y 24 horas.
- Se evaluó la actividad citotóxica de los 3 compuestos análogos del CAPE, en un cultivo primario de linfocitos y de fibroblastos, mediante la técnica de MTT y CV a un tiempo de exposición de 12 y 24 horas.
- Se obtuvo la  $IC_{50}$  de los tres compuestos LQM731, LQM738, LQM755, el cual nos dio a conocer cuáles fueron los compuestos más efectivos para las células cancerígenas y cuáles fueron menos tóxicos para los linfocitos y fibroblastos.
- En base a los resultados se concluye que los compuestos que obtuvieron el mejor efecto dosis respuesta para las células cancerígenas, en ambas técnicas, expuestas durante 24h fue el **LQM738** y **LQM755**.
- Los compuestos que presentaron menor daño a las células sanas (linfocitos) a un tiempo de 24h en la técnica de MTT fueron el **LQM738** y **LQM755**.

## 19. PROSPECTIVAS

Continuar probando la citotoxicidad de los compuestos en *in vitro* en diferentes líneas celulares cancerosas.

Realizar pruebas *in vivo* para corroborar el efecto anticancerígeno.

Tratar de elucidar los posibles mecanismos de acción de los compuestos LQM 738 y 755 en la línea de cáncer más susceptible a través de la evidencia de la apoptosis con Anexina V-FITC, determinación de la fragmentación de ADN, análisis de la expresión de algunas caspasas X por Western blot.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abeloff, M. D. (2002). *Oncología Clínica (Neoplasias Malignas Específicas)* (3 ed., Vol. II Y III). Elsevier (Churchill Livingstone).
- Alberts, B. (2008). *Biología molecular de la Célula* (5ta ed.). (M. L. Mercè Durfort Coll, Trad.) Barcelona, España: Omega.
- Ashwag A. Albukhari, Hana M. Gashlan, Hesham A. El-Beshbishy, Ayman A. Nagy, Ashraf B. Abdel-Naim,. Caffeic acid phenethyl ester protects against tamoxifen induced hepatotoxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 2009; (47): 1689–1695.
- Arvouet Grand A, et al. Standardization of propolis extract and identification of principal constituents. *J Pharm Belg*. 1994; 49(6):462-468.
- Baynes, J. W. (1985). *Bioquímica Médica* (Segunda ed.). Elsevier Mosby.
- Bevan, J. (1982). *Fundamentos de farmacología (Introducción a los principios de acción de los fármacos)* (2da ed.). México: Latinoamericana.
- Bankova V. Determininig quality in propolis samples. *J Am Apither Soc* 2000; Vol 7, N° 2.
- Banskota, A.H., Tezuka, Y., Adnyana, I.K., Midorikawa, K., Matsushige, K., Message, M., Alfredo, A.G, Huertas, A.A.G, Kadota, S. Biological evaluation of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. *Journal of Ethnopharmacology*, 2000; (72): 239-246.
- Banskota, A-H., Tezuka, Y., Prasain, J-K., Matsushige, K., Saiki, I., Kadota, S. Chemical constituents of Brazilian propolis and their cytotoxic activities. *Journal of Natural Products*. 1998; (61): 896-900.
- Banskota, A.H., Tezuka, Y., Kadota, S. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytotherapy Research* 2001; (15): 561-571.
- Bazo, A.P, M.A.M. Rodrigues, J.L. Sforcin, J.L.V. de Camargo, L.R. Ribeiro, D.M.F. Salvadori, Protective action of propolis on the rat colon carcinogenesis, Teratog. *Carcinog. Mutag*. 2002; (22): 183–194.

- Burdock, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*. 1998, (36): 347-363
- Carrasco Legleu, C. Chemoprotective Effect of Caffeic acid Phenethyl ester on promotion in a medium term rat hepatocarcinogenesis assay. *International Union Against Cancer*. 2004; (108): 488-492.
- ConexiónCáncer. (2012). *Cáncer de la próstata en la etapa IV*. Recuperado el 30 de Julio de 2012, de <http://conexioncancer.es/tipos-de-cancer/cancer-de-la-prostata/cancer-de-la-prostata-en-la-etapa-iv/>
- Chen, YJ, Shao Y, Huang MT, Chin CK, Ho CT. The antioxidant caffeic acid phenethyl ester induces apoptosis associated with selective scavenging of hydrogen peroxide in human leukemic HL-60 cells. *Anticancer drugs*, 2001; 12(2): 143-9.
- Choi, YH, Lee WY, Nam SY, Choi KC, Park YE. Apoptosis induced by propolis in human hepatocellular carcinoma cell line. *Int. J. Mol. Med*. 1999; 4(1): 29-32.
- Chabner, C. P. (1991.). *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica* (Vol. II). (D. B. Rafael, Trad.) Buenos Aires, Argentina: Mc Graw Hill.
- Chen, C-H., Wu, C-L., Shy, H-S., Lin, J-K., Cytotoxic prenylflavones from Taiwanese propolis. *Journal of Natural Products*. 2003; (66): 503-506.
- Denizot Francois, Rita Lang. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays: Modification to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *Journal of Immunological Methods*. 1986; (89): 271-277.
- Dev-Aur Chou , Yueh-Hsiung Kuo , Ming-Shiou Jan , Yuan-Yen Chang, Yi-Chen Chen, His-Lin Chiu, Wei-Tang Chang , Chin-Lin Hsu Caffeate derivatives induce apoptosis in COLO 205 human colorectal carcinoma cells through Fas- and mitochondria-mediated pathways. *Food Chemistry*. 2012; 1460–1465.
- Domínguez Rojas M, Figueroa Arredondo P, Díaz Barriga S, Enrique Rincón F, Beltrán Ramírez O, Villa Treviño S. (2009). “Efecto del Éster Fenético del Ácido Caféico (CAPE) sobre la proliferación y apoptosis en varias líneas celulares *in vitro*” IPN, México, D.F.

- Durk E. The Ability of bee products to modulate human immuno system. Eight International Symposium on trends in Biomedicine in Finland: allergy, oxidants and antioxidants, and human health. 1997.
- El-Refaei, M.F, Mona M. El-Naa. Efecto inhibitorio del CAPE en ratones portadores del tumor que afectan las actividades angiostáticas y apoptóticas. *Chemica-Biological Interactions*. 2010; (186): 152-156.
- Flórez, J. (1997). *Farmacología Humana* (4 ed.). MASSON.
- Grunberger D, Banerjee R, Eisinger K et al. Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis. *Experientia*. 1988; 44:230–232
- Harvery, A. L. Natural products in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 2008; 13(19/20): 894-900.
- Hongbin Zou, Hao Wu, Xiangang Zhang, Yu Zhao, Joachim Stöckigt, Yijia Lou, Yongping Yu. Synthesis, biological evaluation and structure-activity relationship study of novel cytotoxic aza- caffeic acid derivatives. *Biorganic & Medicinal Chemistry*, Elsevier. 2010; (18): 6351-6359.
- INEGI. (2010). *Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer*. Recuperado el 24 de octubre de 2011, de <http://www.inegi.org.mx>
- issemym. (2011). *Cáncer Cérvico Uterino*. (G. d. México, Ed.) México.
- Isla, M-I., Nieva Moreno, M-I., Sampietro, A-R., Vattuone, M-A. Antioxidant activity of Argentine propolis extracts. *Journal of Ethnopharmacology*. 2001; (76): 165–170.
- Jeng S, Shih M, Kao C, Chen S. Antimutagenicity of ethanol extracts of bee glue against environmental mutagens. *Food Chem Toxicol* 2000; 38(10): 893-897.
- Jing Wu, Coral Omene, Jerzy Kerkoszks, Maarten Bosland, Jonathan Eckard, Catherine B. Klein, Krystyna Frenkel. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE), derived from a honeybee product propolis, exhibits a diversity of anti-tumor effects in pre-clinical model of human breast cancer. *Cancer Letters*.2011; Journal, (308): 43-53
- Juárez, C. ( 2011). *UNAMirada a la Ciencia*. (D. (. Ciencia), Ed.) Recuperado el 15 de Marzo de 2012, de [www.cic.ctic.unam.mx/unamirada](http://www.cic.ctic.unam.mx/unamirada).

- John Yang, Gwendolyn A. Marriner, Xinyu Wang, Phillip d. Bowman, Sean M. Kerwin, Salomon Stavchansky .Synthesis of a series of caffeic acid phenethyl amide (CAPA) fluorinated derivatives: Comparison of cytoprotective effects to caffeic acid phenethyl ester (CAPE). *Biorganic & Medicinal Chemistry*, Elsevier .2010; (18): 5032-5038.
- Kevekordes, S., Lhuguenot, J.C., Pieters, R., Kleiner, J. Methods of *in vitro* toxicology. *Food Chem Toxicol.* 2002; (40): 193-236
- Kueng, E. Quantification of Cell Cultured on 96-Well Plates. *Analytical Biochemistry.*1989; (182): 16-19.
- Krell, R. Value-added products from beekeeping. FAO Agricultural Services Bulletin N°. 124. Rome 1996.
- Kuklinsk, C. 2000. Farmacognosia. Ed. Omega, Barcelona, España. 371-379.
- Lodish, H. (2005). *Biología Celular y Molecular*. Madrid, España: Panamericana.
- Luo J, Soh J, Xing W, Mao Y, Matsuno T. PM-3, a benzo-gamma-pyran derivative isolated from propolis, inhibits growth of MCF-7 human breast cancer cells. *Anticancer Res* 2001; 21(3B):1665-1671.
- Maribel Saiz, Caridad Lobo, Juan Serrano. (2000). Actividad antitumoral del propóleo. *Natura Medicatriz.* (56-57).
- McEleny K, Coffey R, Morrissey C, Fitzpatrick JM, Watson RW. Caffeic acid phenethyl ester-induced PC-3 cell apoptosis is caspase-dependent and mediated through the loss of inhibitors of apoptosis proteins. *BJU International* 2004; (94): 402-40.
- Matsuno, T. A new clerodane diterpenoid isolated from propolis. *Zeitschrift fuer Naturforschung Section C Biosciences*, 1995; 50(1-2):93-97.
- Matsuno T, Jung S - K, Matsumoto Y, Saito M, Morikawa J. Preferential cytotoxicity to tumor cells of 3,5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid (artepillin C) isolated from propolis. *Anticancer Research*, 1997; 17(5<sup>a</sup>): 3565-8.
- Martínez MT, García F, Hernández MJ, Manzanera Saura JT, Garrigós JA. (2002). Los citostáticos, *Enfermería global* n° 1.

MedlinePlus. (2009). *Cáncer de mama*. Recuperado el 2 de octubre de 2011, de Enciclopedia médica en español: <http://medlineplus.gov/spanish>.

Mou- Tuan Huang, Wei Ma, Patricia Yen, Jian Guo Xie, Jingkang Han, Krystyna renkel, Dezider Grunberger, Allan H. Conney. Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion in mouse skin and the synthesis of DNA, RNA and protein in HeLa cells. *Carcinogenesis* .1996; 17 (4): 761-765.

Mossmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Meth.* 1983; (65): 55-63.

Natarajan, K., Singh, S., Burke, T.R., Grunberger, D., Aggarwal, B.B. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF-kappa-B. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996; 93(17): 9090-9095.

Olga Beltrán Ramírez, Javier Hernández Martínez, Adolfo Sierra Santoyo, Saúl Villa Treviño (2005). “Mecanismo de quimiopreención del éster fenético del ácido caféico (CAPE) en la iniciación de un modelo de hepatocarcinogenesis: alteración de los CYP450” 2º Congreso Nacional de Química Médica. , Querétaro, Qro

OMS. (2009). *Cáncer*. Recuperado el 11 de octubre de 2011, de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/index.html>

Samoliuk VA. The indices of the antioxidant system and the status of the cerebral blood supply in patients with an ischemic episode on apitherapy. *Lik Sprava* 1995; (1-2):68-70.

Su, ZZ, Lin J, Prewett M, Goldstein N, Fisher PB. Apoptosis mediates selective toxicity of (CAPE) toward oncogene-transformed rat embryo fibroblast cells. *Anticancer Research*, 1995; 15(58): 1841-1848.

Süleyman Özen, Ömer Akyol, Mustafa Iraz, Sadık Sögüt, Fikret Özugurlu, Hüseyin Özyurt, Ersan Odacı, Zeki Yıldırım. Role of Caffeic Acid Phenethyl Ester, an Active Component of Propolis, against Cisplatin-induced Nephrotoxicity in Rats. *Journal of Applied Toxicology*. 2004; (24) 27–35.

- Shashi K. Kudugunti, Nikhil M. Vad, Ehi Ekogbo, Majid Y. Moridani. Efficacy of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) in Skin B16-F0 melanoma tumor bearing C57BL/6 mice. *Invest New Drugs*.2011; (29): 52-62.
- Scheller S, Dworniczak S, Waldemar KK, Rajca M, Tomczyk A, Shani J. Synergism between ethanolic extract of propolis (EEP) and anti-tuberculosis drugs on growth of mycobacteria. *Z Naturforsch C A J Biosci* 1999; 54(7- 8): 549-553.
- Takema Nagaoka, Arjun H. Banskota, Yasuhiro Tezuka, Ikuo Saiki and Shigetoshi Kadota. Selective Antiproliferative Activity of Caffeic Acid Phenethyl Ester Analogues on Highly Liver-Metastatic Murine Colon 26-L5 Carcinoma Cell Line. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2002 (10) 3351–3359.
- Yean Jang Lee, Hsing Chun Kuo, Chia Yih Chu, Chau Jong Wang, Wan Chyi Lin. Tsui Hwa Tseng. Involvement of tumor suppressor protein p53 and p38 MAPK in caffeic acid phenethyl ester-induced apoptosis of C6 glioma cell. *Biochemical pharmacology*. 2003; (66): 2281-2289.
- Velázquez. (1997). *Farmacología Básica y Clínica* (18 ed.). Médica Panamericana.
- Victoria Cavaliere, Daniela L. Papademetrio, Mario Lorenzetti, Pamela Valva, Maria Victoria Preciado, Patricia Gargallo, Irene Larripa, Mariela B. Monreal, María Laura Pardo, Silvia E. Hajos, Guillermo A.C. Blanco, Élide M.C. Álvarez. Caffeic Acid phenylethyl Ester and MG – 132 Have Apoptotic and Antiproliferative Effects on Leukemic Cells But Not on Normal Mononuclear Cell. *Translational Oncology* .2009; (2): 46-58.