



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**RECIENTES AVANCES EN FÁRMACOS INHIBIDORES DE TUBULINA COMO
POTENCIALES AGENTES ANTICANCERÍGENOS**

**TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA

BÁRBARA ITZEL DÍAZ EUFRACIO



CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX

AÑO 2016



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor: Alfonso Sebastián Lira Rocha**

VOCAL: **Profesor: Francisco Hernández Luis**

SECRETARIO: **Profesor: Pedro Josué Trejo Soto**

1er. SUPLENTE: **Profesor: José Luis Medina Franco**

2° SUPLENTE: **Profesor: Mario Alberto Díaz Ortiz**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO 121. EDIFICIO E.
DEPARTAMENTO DE FARMACIA. FACULTAD DE QUÍMICA. UNAM**

ASESOR DEL TEMA:

Alfonso Sebastián Lira Rocha

SUSTENTANTE:

Bárbara Itzel Díaz Eufrazio

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. INFORMACIÓN GENERAL	2
2.1. CÁNCER.....	2
2.1.1 Acerca del cáncer.	2
2.1.2. Trascendencia del cáncer	3
2.2. TRATAMIENTO DEL CÁNCER.	4
2.2.1. Tratamiento empleando radioterapia.....	4
2.2.2. Tratamiento empleando quimioterapia.	5
2.2.2.1. Primeros esfuerzos	5
2.2.2.2. Principios de la quimioterapia moderna.....	7
2.2.2.3. Fármacos ampliamente empleados en la quimioterapia.....	7
2.2.2.4. Agentes que interactúan con DNA.	8
2.2.2.4.1. Agentes alquilantes.....	8
2.2.2.4.2. Agentes intercalantes.....	9
2.2.2.4.3. Inhibidores de topoisomerasas ¹⁹	10
2.2.2.4.4. Agentes Reticulantes (Cross-linking agents)	11
2.2.2.5. Antimetabolitos.	11
2.2.2.6. Agentes Hormonales.....	12
2.2.2.7. Anticuerpos monoclonales	14
2.2.2.8. Terapia dirigida (Targeted Cancer Therapy).....	16
2.3. FÁRMACOS INHIBIDORES DE LA TUBULINA.	18
2.3.1 Ciclo celular.	18
2.3.1.1 Regulación de la Expresión de ciclinas y progresión del ciclo celular.....	19
2.3.1.2. Inhibidores de ciclinas y puntos de control del ciclo celular	20
2.3.1.3. Muerte celular.	21
2.3.1.4. Muerte celular programada y fármacos anticancerígenos.	21
2.3.2. Microtúbulos	22
2.3.2.1. Dinámica de los Microtubulos	22
2.3.2.2. Estructura de la tubulina.	24
2.3.2.3. El código de la tubulina.	25
2.2.3. Inhibidores de tubulina,	26
2.3.4. Fármacos estabilizantes de microtúbulos.....	27
2.3.4.1. Taxanos	28

2.3.4.2. Derivados de taxol, investigaciones actuales.	29
2.3.4.2.1. Incorporación de un flúor a la estructura de toxoides.	30
2.3.4.2.2. Modificaciones estructurales de taxanos.....	30
2.3.4.3. Epotilonas.....	32
2.3.4.4. Derivados de epotilonas, investigaciones actuales.....	33
2.3.4.4.1. Síntesis de compuestos que presentan metilaciones en la estructura de la Epotilona D	33
2.3.4.5. Laumalidas	34
2.3.4.6. Pelurosida y Alzheimer.	35
2.3.5. Fármacos Desestabilizantes de Microtúbulos.	36
2.3.5.1. Alcaloides de la Vinca.....	36
2.3.5.2. Derivados de alcaloides de la vinca, investigaciones actuales.	41
2.3.5.2.1.- Elaboración exitosa de alcaloides de vinca con estructuras simplificadas como agentes antimitóticos basados en similitud farmacóforica.	41
2.3.5.2.2.-Potentes alcaloides de la vinca derivados de una inesperada polimerización. .	42
2.3.5.3. Colchicina y sus derivados.....	43
2.3.5.4. Alteración de la tubulina y efecto antimitótico de la colchicina.....	43
2.3.5.5. Usos terapéuticos de la colchicina.	45
2.3.5.6. Efectos antivasculares de los inhibidores de tubulina.....	46
2.3.5.7. Derivados Colchicina, investigaciones actuales.	47
2.3.5.7.1. Agentes de unión al sitio de la Colchicina (CBSI) con actividad de agentes disruptores vasculares.....	47
2.3.5.7.2. Colchicina y ZD6126	48
2.3.5.7.3. CA-4 y sus análogos	48
2.3.5.7.4. Oxi4503	48
2.3.5.7.5. El AVE8062.....	48
2.3.5.7.6. El CC-5079	49
2.3.5.7.7. Nocodazol.....	49
2.3.5.7.8. 2-Metoxiestradiol (2-ME).....	49
2.3.5.7.9. 2-Metoxiestradiol y sus Derivados.....	50
2.3.5.8. Derivados de colchicina.	50
2.3.5.8.1. Inhibidores de tubulina con afinidad al sitio de unión de la colchicina.....	50
3. DISCUSIÓN	52
4. CONCLUSIONES	57
5. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	58

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer se ha convertido recientemente en una de los padecimientos con alto número de incidencias; de acuerdo a estadísticas nacionales como internacionales existen diferentes tipos de fármacos empleados actualmente en la quimioterapia, con diferentes estructuras químicas y diferentes mecanismos de acción.

El presente trabajo corresponde a la búsqueda de información de actualidad sobre fármacos empleados en la terapéutica del cáncer, acentuando la investigación en una clasificación especial conocida como fármacos inhibidores de tubulina.

El documento expone las características principales de fármacos estabilizantes y desestabilizantes de microtúbulos, sus usos en la terapéutica, sus participaciones en ensayos clínicos, las investigaciones actuales en la búsqueda de análogos con mayor efectividad y menor toxicidad sistémica,

En algunos casos se presentan también otros usos terapéuticos de las moléculas con afinidad por algunos de los sitios de unión presentes en la tubulina

1.1.- Objetivo

Presentar y comparar la información más relevante respecto a los fármacos inhibidores de tubulina y su efecto terapéutico como fármacos anticancerígenos.

2. INFORMACIÓN GENERAL

2.1. Cáncer

2.1.1 Acerca del cáncer

Cáncer es un término empleado para denominar una condición en la cual las células se dividen sin control. El factor determinante que favorece la presencia de dicha condición puede ser un incremento en la velocidad de nacimiento o un decremento en la velocidad de muerte; ambos factores, nacimiento y muerte celular, están regulados por control genético. Las mutaciones somáticas crean una variante alterada que prolifera con mayor velocidad que las células normales. Dicho lo anterior es posible concluir que el cáncer es el resultado de una serie de mutaciones somáticas, en algunos casos, también una predisposición heredada.¹

Los genes involucrados en las mutaciones se dividen en dos principales categorías, oncogenes y genes supresores de tumores. Los primeros son genes cuya actividad normal es promover la proliferación celular, en contra parte, los segundos generan productos funcionales que actúan para limitar la proliferación. Las células cancerígenas presentan pérdida de función de los productos expresados por los genes supresores de tumores, además de otras funciones alteradas como prevención de la progresión inapropiada del ciclo celular, dirección hacia apoptosis, o la capacidad de establecer las mutaciones del genoma.²

El término quimioterapia, debería referirse al tratamiento de una dolencia mediante el uso de sustancias químicas; sin embargo actualmente el término quimioterapia se emplea únicamente para referirse a los fármacos usados en el tratamiento del cáncer y en ocasiones también se emplea en el uso de antibióticos (quimioterapia antibacteriana).

Hanahan y Weinberg, proponen en su más reciente publicación que los tumores son más que masas insulares de células cancerosas proliferativas, y en su lugar son tejidos complejos conformados de distintos tipos de células que participan

en interacciones heterópicas unas con otras. Ellos describen al cáncer como “*un conjunto de enfermedades caracterizada por un desequilibrio entre la división y la muerte celular*”^{1,3}. Algunos signos distintivos que confieren a las células somáticas la presencia de cáncer, se muestran en la **Figura 1**.



Figura 1. Signos distintivos del cáncer, características adquiridas por las células somáticas en presencia de cáncer.³

2.1.2. Trascendencia del cáncer

De acuerdo al reporte GLOBOCAN – Global Burden of Cancer Study, un proyecto de la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer – tan sólo en el 2012 se presentaron 14, 067,900 nuevos casos, y el número de muertes a causa de dicha enfermedad ascendió a 8,201,600 personas. Como resultado de dicho estudio se predice que la probabilidad de padecer cáncer antes de los 25 años es de un 18% para la población mundial.⁴

En nuestro país, el cáncer es una de las principales causas de mortalidad junto con las enfermedades del corazón y la diabetes mellitus. De acuerdo al INEGI en 2014 se presentaron 77,091 defunciones asociadas a este padecimiento.⁵

No es de sorprenderse entonces que la importancia de este padecimiento haya logrado unir el esfuerzo conjunto de empresas, instituciones gubernamentales y grupos de investigación tanto a nivel nacional como internacional en la búsqueda de curas para este padecimiento.

2.2. Tratamiento del cáncer

La terapéutica del cáncer tiene como objetivo curar este padecimiento, o en los pacientes donde no sea posible mejorar considerablemente tanto su tasa de supervivencia como su calidad de vida. Existen tres métodos principales para tratar un cáncer ya establecido, tales como la resección quirúrgica, la radiación y la farmacoterapia, generalmente mal denominada en este contexto como quimioterapia.^{6,7}

2.2.1. Tratamiento empleando radioterapia

La radioterapia consiste en el uso de alta energía proveniente de radiación de rayos x, rayos gamma, neutrones, protones u otras fuentes con la finalidad de matar células cancerígenas para observar como efecto terapéutico la disminución del tamaño de los tumores o del número de éstos.⁸

La radioterapia puede provenir de una maquina externa al cuerpo, o provenir de material radioactivo localizado en el interior del cuerpo cerca de las células cancerígenas (terapia interna de radiación). La radioterapia sistémica usa sustancias radioactivas, como anticuerpos monoclonales radiomarcados, que viajan en la sangre a los tejidos a través del cuerpo.⁸ Existen buenos estudios clínicos en segunda fase que han comprobado la eficacia de la radioterapia sistémica en conjunto con la quimioterapia en la disminución de tumores en cáncer de mama.⁹

La cirugía y la radioterapia son las principales modalidades empleadas en el tratamiento del cáncer en los pacientes que presentan tumores específicamente localizados. En los casos donde se presenta metástasis diseminada o el tumor está en un sitio de difícil acceso para ser removido mediante resección quirúrgica se emplea la quimioterapia. Esta técnica tiene la capacidad de disminuir las células cancerígenas reduciendo el volumen y el número de tumores; o en los casos menos afortunados proporcionar un efecto paliativo en términos de prolongación de la vida o control de síntomas.^{9,10.}

2.2.2. Tratamiento empleando quimioterapia

Se conoce como quimioterapia, el empleo de fármacos en el tratamiento de enfermedades neoplásicas con la finalidad de destruir las células cancerígenas.¹¹ La quimioterapia puede tener un efecto adyuvante, cuando se emplea para reducir el tamaño de un tumor antes de la cirugía o la radioterapia; o adyuvante cuando se emplea con el objetivo de destruir las células cancerígenas que permanecen después del tratamiento con otras técnicas. De forma que el efecto terapéutico de la quimioterapia consiste en destruir las células cancerígenas, ejercer un efecto sinérgico con otros tratamientos o matar las células cancerígenas recurrentes o que se han diseminado en el cuerpo.⁶

2.2.2.1. Primeros esfuerzos

La era de la quimioterapia comenzó en 1940 con el empleo de compuestos de tipo antifolatos y mostazas nitrogenadas. Louis Goodman y Alfred Gilman comenzaron a estudiar el potencial terapéutico de una serie de compuestos descubiertas durante la guerra entre ellas las mostazas nitrogenadas. En 1942 estos investigadores emplearon dicha sustancia en el tratamiento de pacientes con linfoma no Hodking avanzado observando regresión de tumores.¹²

La información obtenida los condujo posteriormente a estudiar el mecanismo de acción demostrando la formación de un intermediario alquilante el cual reacciona con sitios donadores de electrones en proteínas y ácidos nucleicos; y se estableció

el principio de que los tumores pueden ser más susceptibles a ciertas sustancias que las células normales.¹²

El descubrimiento de que el agente alquilante forma un enlace covalente con el DNA se realizó años más tarde mediante estudios que demostraron sitios específicos de alquilación en las bases nitrogenadas de tipo purinas, conduciendo al entrecruzamiento de cadenas y la inducción de apoptosis. Sin embargo, Goodman y Gilman notaron pronto que los tumores rápidamente se volvían resistentes a los fármacos.

Los antifolatos constituyen la primera clase de antimetabolitos empleados. El patólogo Sydney Faber desarrolló análogos de folatos como el amonofterina capaces de lograr por primera vez remisión en niños con leucemia linfoblástica aguda. La actividad de estas sustancias, ahora conocidas como agentes estabilizantes, estableció que la leucemia linfoblástica aguda era tratable y generó optimismo en que otras enfermedades malignas podían ser tratadas con fármacos anticancerígenos en el futuro. Por razones que no están completamente claras, pero que se atribuyen a la toxicidad impredecible del amonofterina, este fármaco fue remplazado por el metotrexato en los años 50's, un análogo de antifolato menos potente que su predecesor pero con un mejor índice terapéutico.¹³

Como agente único, el metotrexato demostró tener actividad antitumoral en una serie de neoplasias epiteliales, incluyendo cáncer de mama, ovario, vejiga, cabeza y cuello. Sin embargo, sus efectos más notables fueron reconocidos en dos tumores poco comunes. Más tarde se descubrió que el metotrexato podría curar el coriocarcinoma, una neoplasia de células germinales que se origina en las células trofoblásticas de la placenta. Este fue el primer tumor sólido que se curó por quimioterapia en humanos.¹²

La base de los efectos selectivos de estos agentes frente a las células tumorales y al tejido normal no era evidente a partir de los primeros experimentos de laboratorio o clínicos. Tras una década de estudios se observó que los antifolatos inhiben específicamente la dihidrofolato reductasa (DHFR). Posteriormente, Joseph

Bertino y colaboradores propusieron que la acción del metotrexato depende del transporte activo en las células a través del transportador de folato reducido 1 (RFT-1), su conversión a un poliglutamato intracelular de larga vida y su unión a DHFR, lo que conduce a la inhibición de la síntesis de timidilato y purinas, induciendo a la apoptosis.¹²

2.2.2.2. Principios de la quimioterapia moderna

George Hitchings y Gertrude Elion sintetizaron análogos de purinas como la 6-mercaptopurina y demostraron que pequeños cambios en compuestos empleados por las células podían inhibir el crecimiento de tumores, inhibiendo los primeros pasos en la síntesis de RNA y DNA.¹²

La investigación en productos naturales, ha resultado durante las últimas décadas una fuente significativa de fármacos anticancerígenos, como es el caso de los alcaloides de la vinca (los cuales se discutirán a profundidad en los páginas posteriores), las camptotecinas, efotilonas y taxanos. Adicionalmente, existen también ejemplos de productos naturales en fases clínicas o recientemente descubiertos de origen marino como las briostatinas.^{13,14}

2.2.2.3. Fármacos ampliamente empleados en la quimioterapia

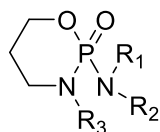
La quimioterapia involucra el uso de moléculas de bajo o alto peso molecular que destruyen las células tumorales selectivamente o al menos limitar su proliferación. Los fármacos anticancerígenos empleados en la terapéutica del cáncer atacan a diversas dianas biológicas, y poseen diferentes mecanismos de acción. Los grupos de fármacos más representativos, de acuerdo a su mecanismo de acción, son: agentes que interactúan con el DNA, antimetabolitos, hormonas, anticuerpos monoclonales, agentes de moléculas dirigidas, y agentes antitubulínicos.^{15,16}

2.2.2.4. Agentes que interactúan con DNA

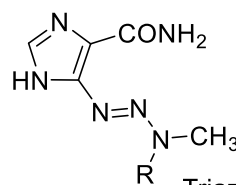
Estos agentes tienen como diana biológica el DNA, dicha macromolécula es de alta importancia por ejercer un rol vital en la célula al controlar procesos como la replicación, transcripción y expresión de genes, todos estos procesos clave en el desarrollo y la división celular. Los fármacos que interactúan con el DNA constituyen un grupo de fármacos anticancerígenos, los cuales actúan a través de varios mecanismos, como se describe a continuación.

2.2.2.4.1. Agentes alquilantes

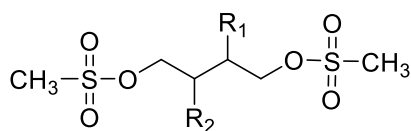
Los agentes alquilantes son entidades electrofílicas que reaccionan con fragmentos nucleofílicos del ADN o de las proteínas dando como resultado la transferencia covalente de un grupo alquilo. El efecto citotóxico de estos agentes se debe principalmente a la alquilación de bases de DNA que pueden perjudicar procesos de DNA esenciales tales como replicación y/o transcripción de ADN, Algunos ejemplos de intercalantes clásicos se muestran en la **figura 2** ¹⁷



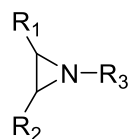
Oxazoforinas



Triazanes e hidrazinas



Alquilsulfonatos



Etileniminas

Figura 2.- Agentes Alquilantes

2.2.2.4.2. Agentes intercalantes

Los intercalantes son generalmente moléculas planas y aromáticas que pueden unirse de manera covalente o no covalente entre los pares de bases aromáticos del DNA o el RNA, que logran destruir las células cancerígenas dañando el DNA y deteniendo la división celular. Los agentes intercalantes tienen la facultad de insertarse de forma axial o paralela respecto al eje establecido por los pares de bases.¹⁸

Los sustituyentes presentes en los intercalantes aromáticos dictan la magnitud con la que se intercalará el fármaco en el DNA. Algunos factores que determinan la actividad y ejercen influencia en la selectividad son el tamaño, la conformación del ligando y los sustituyentes.¹⁸

Entre los compuestos anticancerígenos utilizados en la clínica y que siguen este mecanismo destaca la actinomicina D, la cual es usada en el tratamiento de diferentes tipos de cáncer como sarcomas, nefroblastoma, tumor de células germinales y melanoma; un derivado de la antraciclina, la daunorrubicina, es usado en el tratamiento de leucemia mieloide aguda, neuroblastoma y leucemia mieloide crónica; la doxorrubicina se utiliza principalmente en el tratamiento del linfoma de Hodgkin; la mitoxantrona, la cual es un fármaco usado en el tratamiento de cáncer de mama metastásico y el linfoma no hodgkiniano; así como la amsacrina (m-AMSA), que es un agente antineoplásico que ha sido usado en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda. Las estructuras de los agentes intercalantes más estudiados se muestran en la **Figura 3**.

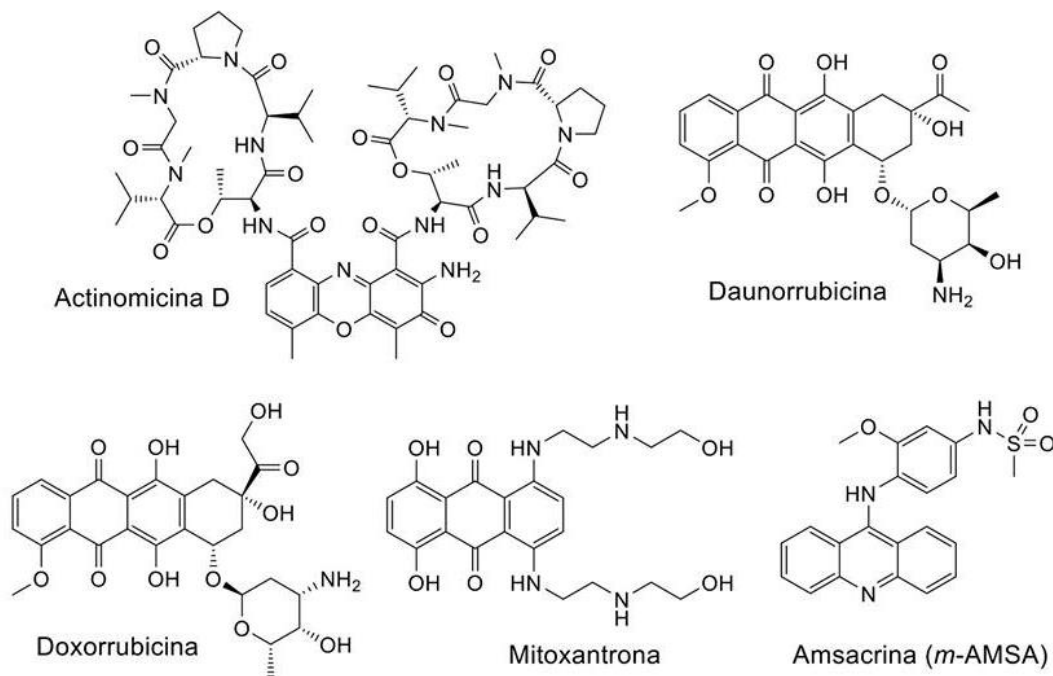


Figura 3. Agentes intercalantes de DNA

2.2.2.4.3. Inhibidores de topoisomerasas

El estado topológico del DNA en la célula es modulado por enzimas conocidas como topoisomerasas, mismas que regulan el sub- y sobre enrollamiento, remueven los nudos y deformaciones del material genético creando cortes transitorios en el esqueleto de azúcar-fosfato de la doble hélice. Se conocen dos tipos, la Topoisomerasa I y la Topoisomerasa II, responsables del desenrollamiento de la doble hélice del DNA durante la replicación. Entre los fármacos que actúan sobre estas enzimas están el irinotecano, el topotecano y el etopósido.¹⁹

La topoisomerasa II ha sido identificada como el sitio de acción de algunos de los fármacos quimioterapéuticos más usados en la clínica contra el cáncer, entre los que se incluye la doxorubicina (adriamicina), actinomicina D, las epipodofilotoxinas, etopósido y tenopósido, las estructuras moleculares de éstas moléculas se presentan en la **Figura 4**.

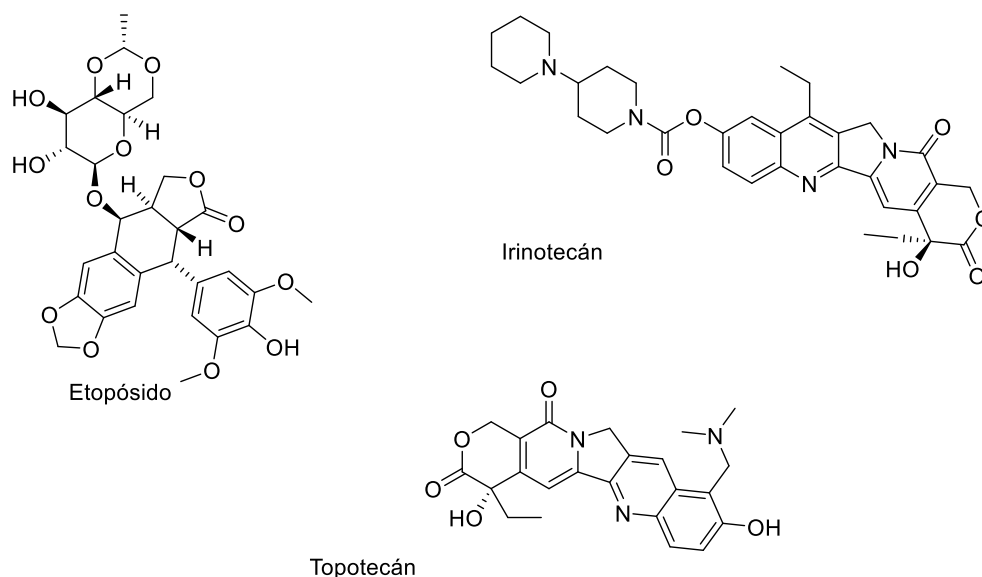


Figura 4.- Inhibidores de la Topoisomerasa

2.2.2.4.4. Agentes Reticulantes (Cross-linking agents)

Los agentes de reticulación funcionan uniéndose al ADN resultante de una unión cruzada de DNA intra-hebra o de cadena. Los compuestos de Platino - cisplatino, Carboplatino, oxaliplatino- y las mostazas nitrogenadas – ciclofosfamida, ifosfamida- son ejemplos de este tipo de anticancerígenos. Los compuestos de nitrosurea, busulfán y tifea son también agentes de reticulación.²⁰

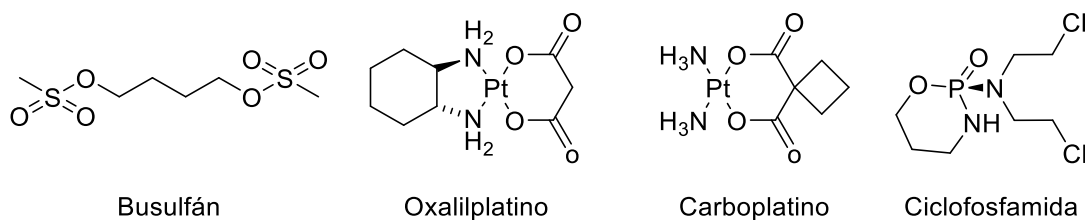


Figura 5.- Agentes Reticulantes

2.2.2.5. Antimetabolitos

Los antimetabolitos son agentes citotóxicos que se asemejan estructuralmente a las purinas y pirimidinas naturales. Tienen dos modos de acción: la inhibición de las enzimas clave implicadas en la síntesis de ADN, y la incorporación en el ADN y el ARN para causar rupturas de la cadena o conducir a

la terminación de la síntesis de cadena. Estos fármacos actúan generalmente en la fase S del ciclo celular. ²¹

Su principal característica se basa en la interacción con vías biosintéticas esenciales, empleando análogos estructurales de metabolitos naturales comunes involucrados en la síntesis de DNA y RNA, también sustituyen metabolitos que son normalmente incorporadas al DNA o compiten por el sitio catalítico de la enzima. ¹⁶

Algunos fármacos representativos de esta categoría, son el 5-fluorouracilo, el metotrexato, del cual se discutió su descubrimiento en las páginas previas, , la mercaptopurina y la gemcitabina, mostrados en la **figura 6**. ¹⁵

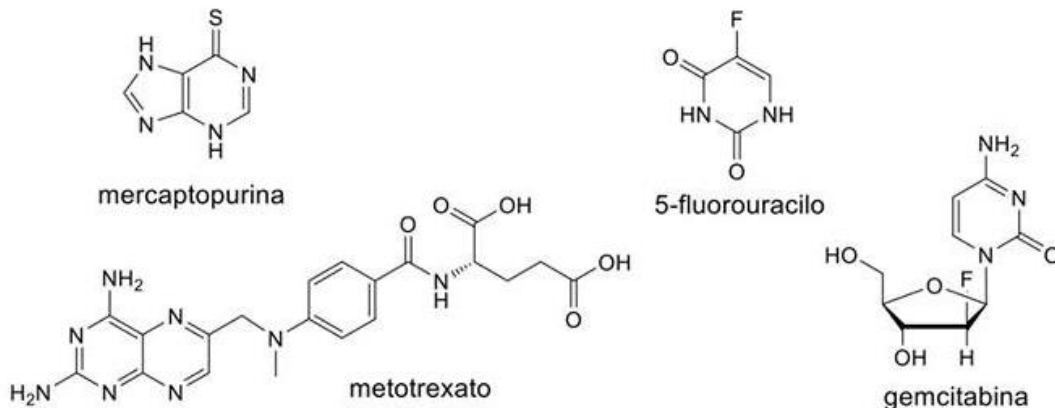


Figura 6. Fármacos Antimetabolitos

2.2.2.6. Agentes Hormonales

Los tumores que surgen en tejidos sensibles a las hormonas como mama, útero o glándula prostática son, en algunas ocasiones, dependientes de hormonas. Este efecto está relacionado con la presencia de receptores hormonales en las células malignas. Se ha llevado a cabo una gran cantidad de investigación sobre el mecanismo de acción de los receptores de hormonas esteroides, que han ayudado a identificar blancos moleculares potenciales en las células que podrían utilizarse para prevenir o tratar padecimientos como el cáncer de mama. ²²

El crecimiento de tumores puede ser inhibido por agonistas o antagonistas hormonales, o por agentes que inhiben la síntesis de la hormona. Las hormonas o

sus análogos que tienen acciones inhibitorias sobre los tejidos diana pueden usarse en el tratamiento de tumores presentes en los tejidos antes mencionados. Tales procedimientos por sí solos rara vez producen una cura, sin embargo, suelen retardar el crecimiento tumoral y mitigan los síntomas del cáncer.⁶

Las hormonas esteroideas incluyen estrógenos, progesterona y andrógenos; se biosintetizan a partir de una molécula madre común, el colesterol, mediante de una reacción catalizada por varias enzimas para producir una amplia variedad de hormonas para diferentes tejidos y órganos diana. Los estrógenos tienen efectos significativos sobre el crecimiento, la diferenciación y el funcionamiento de muchos tejidos tales como el seno, el útero, el sistema cardiovascular, el cerebro y el tracto urogenital tanto de hombres como de mujeres.²³

Los moduladores selectivos del receptor de estrógeno actúan como competidores vinculantes de los estrógenos y bloquean sus efectos. El miembro más común y utilizado con éxito de este grupo es el tamoxifeno, que es un anti-estrógeno no esteroideo que antagoniza los efectos de los estrógenos y se utiliza en la prevención y el tratamiento del cáncer de mama.²²

También existen fármacos que actúan selectivamente sobre los receptores de estrógeno, causando regulación a la baja, estos anti-estrógenos carecen de actividad agonista; uno de los miembros más ampliamente utilizados es el fulvestrant —anti-estrógeno esteroideo — el cual puede bloquear completamente la actividad estimuladora de estrógenos y la actividad agonista parcial de los SERMs (Moduladores selectivos de receptores de estrógenos).²³

Los inhibidores de la aromatasa corresponden a otro grupo de fármacos empleados que tienen el potencial de reducir los receptores de tumores mediante la sinergia con los inhibidores de la COX-2. Estos fármacos bloquean la producción de estrógenos a partir de andrógenos, que es la principal vía de producción de estrógenos en mujeres posmenopáusicas y no embarazadas, así como de otros sitios y tejidos en todo el cuerpo. Se ha observado que el estrógeno presente en los tejidos facilita la patogénesis del cáncer de mama. Por lo tanto, estos fármacos

bloquean la enzima implicada en la biosíntesis de estrógenos (aromatasa citocromo P450 o estrógenos sintetasa), y se usan comúnmente en mujeres posmenopáusicas. Estos fármacos se clasifican en Inhibidores esteroideos irreversibles, tales como el exemestano (Aromasin) que forman una unión permanente con el complejo de la enzima aromatasa. Y en inhibidores no-esteroideos, tales como el anastrozol (Arimidex) y letrozol (Femara) que inhiben la enzima por competición reversible.

Los fármacos de acción hormonal previamente discutidos y empleados ampliamente en cáncer de seno, se muestran en la **Tabla 1.**²²

Tabla 1.- Fármacos anticancerígenos de acción hormonal más comunes empleados en la terapéutica^{22, 23}

Tipo de fármaco de acción hormonal	Ejemplos
Hormonas /Análogos	Buserelina, dietilestilbestrol, etinilestradiol, goserelina, histrelina, lanreotide, leuprorelina, medroxiprogesterona, megestrol, norhisterona, triptorelina, octreótido, pasreótido
Antagonistas	Bicalutamida, ciproterona, degarelix, flutamida, fulvestrant, mitotano, tamoxifeno, toremifeno
Inhibidores de la aromatasa	Anastrozol, exemastina, letrozol

2.2.2.7. Anticuerpos monoclonales

Es objetivo primordial, en el desarrollo de fármacos anticancerígenos es mejorar la eficacia de los fármacos convencionales sin añadir mayor toxicidad sistémica. Los anticuerpos monoclonales son tal vez la clase más prometedora de agentes en el tratamiento de las leucemias. Los anticuerpos monoclonales tienen específicamente como diana biológica antígenos asociados a leucemia, de forma

que los anticuerpos potencian la efectividad de tratamientos presentando una considerable disminución de la toxicidad no específica²⁴ A continuación se describen algunos de los fármacos que emplean anticuerpos más utilizados. Varios de ellos se resumen también en la **Tabla 2**.

El Rituximab es un anticuerpo monoclonal que se utiliza (en combinación con otros agentes quimioterapéuticos) para el tratamiento de ciertos tipos de linfoma. Induce lisis de los linfocitos B uniéndose a la proteína CD20. También sensibiliza células resistentes a otros fármacos quimioterapéuticos. Es eficaz en el 40-50% de los casos cuando se combina con la quimioterapia estándar.²⁴

Trastuzumab (Herceptin) es un anticuerpo monoclonal murino humanizado que se une a una proteína oncogénica denominada HER2 (el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano), miembro de la familia más amplia de receptores con actividad integral de tirosinasa. Existe evidencia de que, además de inducir respuestas inmunitarias del huésped, el trastuzumab induce inhibidores del ciclo celular p21 y p27. Las células tumorales en aproximadamente el 25% de los pacientes con cáncer de mama sobreexpresan este receptor y el cáncer prolifera rápidamente. Los primeros resultados muestran que el trastuzumab administrado con quimioterapia estándar ha dado como resultado una tasa de supervivencia de 79% a 1 año en pacientes sin tratamiento con esta forma agresiva de cáncer de mama. El fármaco se administra a menudo con un taxano como el docetaxel.²⁵

Bevacizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado que se utiliza para el tratamiento del cáncer colorrectal, pero se espera que también sea útil para el tratamiento de otros tipos de cáncer. Neutraliza el VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), evitando así la angiogénesis que es crucial para la supervivencia del tumor.²⁶

Catumaxomab se une a una molécula de adhesión epitelial, EpCAM, que se sobreexpresa en algunas células malignas. El anticuerpo se une a esta molécula de adhesión y también a los linfocitos T y a las células presentadoras de antígenos, facilitando así la acción del sistema inmune en la eliminación del cáncer.

Tabla 2.- Fármacos basados en anticuerpos monoclonales. “”

Grupo	Ejemplos	Mecanismo
Anti-EGF, EGF-2	Panitumumab, trastuzumab	Detiene la proliferación celular
Anti-CD20 / CD30 / CD52	Brentixumab, ofatumab, rituximab	Inhibición de la proliferación de linfocitos
Anti-CD3 / EpCAM o CTLA-4	Catumexomab	Vincula las moléculas de adhesión que promueven la muerte celular
Anti-VEGF	Bevacizumab	Previene angiogénesis

2.2.2.8. Terapia dirigida (Targeted Cancer Therapy)

Tras múltiples esfuerzos, el descubrimiento de fármacos anticancerígenos se vio revolucionado con los resultados obtenidos a partir de las investigaciones de la terapia dirigida –targeted cancer therapy- un tipo de tratamiento que busca interactuar específicamente con una diana biológica particular involucrada en el proceso que se desea modificar, minimizando interacciones secundarias con otros blancos biológicos.²⁷ Es necesario destacar que la terapia dirigida es posible gracias a los avances en el conocimiento de la naturaleza del cáncer y a la identificación de los procesos que se alteran en el curso del mismo. Por ende, como resultado de la terapia dirigida se ha logrado el desarrollo de fármacos más eficaces, con citotoxicidad a sitios dirigidos y adicionalmente con mecanismos de acción que interfieren directa y específicamente en los procesos blancos.

Las investigaciones actuales se centran en el ataque preciso a los procesos “blanco” mencionados en la **Tabla 3**. Dichas investigaciones han resultado en moléculas en fase clínica con gran potencial, así como en fármacos ya empleados en la terapia clínica. Lo que se busca al atacar un sitio blanco específico es mejorar el efecto anticancerígeno y disminuir la toxicidad sistémica que los fármacos clásicos ocasionan.

Tabla 3. Mecanismos de acción terapéuticos de los fármacos anticancerígenos DE LA TERAPIA ENFOCADA.¹⁶

Proceso blanco	Mecanismo de acción terapéutico	Blanco biológico / Fármaco
Apoptosis	Activación de Vías de apoptosis	BCL2
Señalización	Interferencia con señales de transducción / respuesta	ABL (Gleevec; novartis)
Invasión/ Metastasis	Inhibición esparcimiento de tumores	Cathepsin K
Angiogenesis	Interferencia con el suministro sanguíneo a tumores	VEGF (Avastin; Genentech/Roche)
Tumores asociados a proteínas de membrana	Anticuerpos específicos citotóxicos	CD20 (Rituxan; Biogen Idec/Genetech)
Replicación	Interferencia con síntesis de DNA y división celular.	Microtubulos (Taxol)
Silenciador de proteínas	Inhibición del proceso de aceleración de proteínas de degradación	Proteosoma (Velcade; Millennium Pharmaceuticals)
Epigenética	Remodeladores de cromatina, Metiladores de DNA	Interacciones con HDAC Interacciones DNMT
Respuesta a estrés	Interferencia con el estrés celular	Muperfamilia ATPasa/Chaperonas

Un amplio número de tumores sobreexpresan receptores de factor de crecimiento, por lo tanto estimulan la proliferación celular y el crecimiento tumoral, lo anterior puede ser inhibido mediante el empleo de anticuerpos monoclonales (discutidos previamente) o inhibidores de tirosincinasas.

Muchas de las dianas moleculares prometedoras son los receptores de tirosincinasa, cuyos inhibidores. Existen fármacos inhibidores como el imatinib que

previenen la señalización provocada por factores de crecimiento inhibiendo cinasas oncogénicas específicas; otros ejercen su efecto por inhibición de las tirosincinasas receptoras específicas, como el fármaco erlotrip, afín al receptor de EGF; o ya sea inhibiendo varias cinasas asociadas a receptores como sorefenib empleado en carcinoma avanzado de células renales.^{6,28}

2.3. Fármacos inhibidores de la Tubulina

2.3.1 Ciclo celular

Es importante entender el mecanismo del ciclo celular, para comprender el efecto biológico producido por los fármacos anticancerígenos que afectan alguna de las diferentes etapas del ciclo celular.

El ciclo celular consta de cuatro fases ordenadas y estrictamente reguladas (denominadas G1, S, G2 y M). La síntesis de ADN (fase S) y la separación de dos células hijas (fase M) son los principales pasos de la progresión del ciclo celular. El período de compromiso con la progresión del ciclo celular que precede a la fase S es la fase G1, durante la cual las células se preparan para iniciar la síntesis de ADN. Posteriormente, el periodo entre las fases S y M se denomina fase G2. Esta importante fase permite a las células reparar los errores que se producen durante la replicación del ADN. En células normales, la progresión del ciclo celular puede ser controlada en respuesta a diversos estímulos mitogénicos y anti-mitogénicos, resultando en la modulación de diversos mecanismos moleculares. Las diferentes cascadas de señalización pueden regular las proteínas del ciclo celular, la expresión génica, las modificaciones post-traduccionales y la degradación de proteínas.²⁹

2.3.1.1 Regulación de la Expresión de ciclinas y progresión del ciclo celular

Las ciclinas son proteínas celulares responsables de la regulación de las cinasas serina / treonina llamadas Cinasas dependientes de ciclina. Se caracterizan por dos secuencias críticas para su función: la "caja de ciclina", esencial para su interacción con Cdks específicos, y la "caja de destrucción", requerida para su degradación por el proteosoma. Esta última también se conoce como secuencia

PEST (prolina (P), ácido glutámico (E), serina (S) y treonina (T)). Mientras que las moléculas de Cdk se expresan de forma estable a lo largo del ciclo celular, las ciclinas específicas se sintetizan rápidamente y se degradan durante cada fase.

A medida que G1 comienza, la ciclina D se sintetiza rápidamente e interactúa con Cdk4 o Cdk6 dependiendo del tipo de célula para formar un complejo estable que permanece activo durante toda la fase G1. Durante el último G1, la ciclina E comienza a ser sintetizada; Esto enlaza y activa Cdk2. El nivel de ciclina E alcanza un pico durante la transición G1-S y disminuye durante la fase S. Al final de G1, también comienza a expresarse la ciclina A; Esto se asocia con Cdk2, formando el complejo Cdk2 / ciclina A que es esencial para la replicación del ADN.

En contraste con la ciclina E, la ciclina A aumenta durante la fase S, alcanza un máximo al comienzo de la mitosis (profase) y se degrada rápidamente durante la metafase posterior. La ciclina A también puede unir y activar Cdk1, cuya actividad es necesaria para iniciar y completar la mitosis. Sin embargo, se cree que la activación fisiológica de Cdk1 ocurre a través de la interacción con ciclinas B, que se expresan durante la fase S tardía y se degradan rápidamente una vez que se ha completado la mitosis. Los complejos Cdk / ciclina se activan por fosforilación de un residuo de treonina de Cdk específico que provoca un cambio conformacional que desenmascara el sitio activo de quinasa. La fosforilación de Cdk y la activación son llevadas a cabo por el complejo de quinasa activadora de Cdk (CAK) que contiene Cdk7, ciclina H y ménage à trois 1 (MAT1). Una vez activados, los complejos Cdk / ciclina pueden ser inhibidos por un segundo evento de fosforilación en un residuo de tirosina terminal específico por una quinasa diferente, la quinasa Wee. La fosfatasa Cdc25 puede aliviar esta inhibición eliminando el grupo fosfato. La actividad de Cdk se sintoniza fina y rápidamente mediante sucesos de fosforilación / desfosforilación a lo largo del ciclo celular.^{30,31} La expresión de las proteínas reguladoras se presenta en la Figura 7.

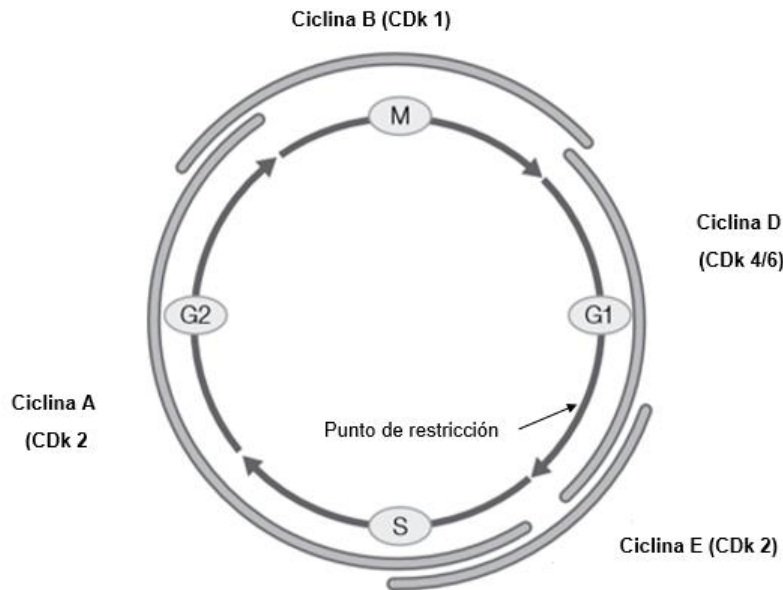


Figura 7.- Proteínas reguladoras del ciclo celular.

2.3.1.2. Inhibidores de ciclinas y puntos de control del ciclo celular

Los inhibidores de Cdk y la actividad Cdk cinasa del Ciclo Celular puntos de control, ("Checkpoints") pueden ser regulados negativamente por las proteínas CKI (inhibidor de CDK). En los mamíferos, se han identificado dos subgrupos CKI principales: uno incluye p16 (INK4A), p15 (INK4B), p18 (INK4C) y p19 (INK4D), que inhiben específicamente la actividad Cdk4 y Cdk6, mientras que el otro subgrupo incluye p21 (CIP1 / WAF1), p27 (KIP1) y p57 (KIP2), que actúan como inhibidores generales de Cdk pero que tienen Cdk4 y Cdk2 como dianas preferidas. La actividad inhibidora de CKI puede deberse al secuestro de Cdk, a la prevención de la unión a ciclina ya la posterior activación (p16) o a la interacción e inhibición directa de complejos Cdk / ciclina activos (p21 y p27). Los CKI desempeñan papeles claves durante la progresión del ciclo celular, ya que son los principales efectores de los "puntos de control" del ciclo celular, mecanismos de control que detienen el ciclo celular cuando se presentan anomalías. Por ejemplo, se ha establecido que las tensiones celulares que conducen al daño del ADN (por ejemplo, radiaciones y

mutagénicos químicos) activan el factor de transcripción p53 (también conocido como el "guardián" del genoma), que a su vez regula positivamente la expresión de p21, previniendo la fosforilación de pRb y la progresión del ciclo celular.³²

2.3.1.3. Muerte celular

El principal proceso de muerte celular se denomina muerte celular programada también conocido como apoptosis, y es un mecanismo activo, controlado genéticamente, regulado tanto a nivel transcripcional como post-transcripcional. Durante el proceso apoptótico, las células gradualmente se "degradan" sin liberar su contenido. Sus restos son reconocidos por los macrófagos o células circundantes a través de antígenos de superficie específicos y son eliminados. Por esta razón, la apoptosis no induce los procesos inflamatorios que resultarían de la lisis celular. Por el contrario, la necrosis es un proceso de muerte celular en el que se interrumpe la membrana plasmática y se liberan los componentes celulares. Aunque durante mucho tiempo se consideró el resultado de un proceso incontrolado, está emergiendo ahora que la necrosis podría estar regulada por mecanismos moleculares aún por dilucidar completamente.³³

2.3.1.4. Muerte celular programada y fármacos anticancerígenos

La mayoría de los agentes quimioterapéuticos usados en el tratamiento del cáncer desencadenan la apoptosis causando daño al ADN directamente o indirectamente. Un grupo importante de agentes quimioterapéuticos es el que se dirige a las estructuras del citoesqueleto y en particular a los microtúbulos. Por ejemplo, la vincristina y la vinblastina previenen la polimerización de la tubulina y por lo tanto el montaje del huso mitótico, dando como resultado la inducción de la apoptosis. Por el contrario, otros compuestos, como el taxol, estabilizan los microtúbulos; además, estos agentes pueden inducir la apoptosis previniendo la separación cromosómica durante la mitosis.³⁴ La mayoría de los fármacos que atacan la dinámica de los microtúbulos tienen la capacidad de inhibir a la proteína tubulina, de forma que se conocen comúnmente como inhibidores de tubulina.

2.3.2. Microtubulos

Los microtúbulos son componentes clave del citoesqueleto, son proteínas polares poliméricas filamentosas de formas tubulares y largas. Se conforman por dímeros de α - y β -tubulina y se caracterizan, principalmente, por su alta dinámica de polimerización/despolimerización, promoviendo el alargamiento y contracción de filamentos.^{33,34}

Los microtúbulos se involucran en funciones celulares tales como mantenimiento del tamaño de la célula, crecimiento, procesos de transporte intracelular, señalización celular, motilidad y, principalmente, en la división celular. En los mamíferos los microtúbulos están presentes en la interfase y durante la división celular, en la cual los microtúbulos que constituyen el uso mitótico son dianas terapéuticas altamente sensibles a inhibidores terapéuticos, lo que explica la razón de que la alteración de microtúbulos constituya un blanco en tratamientos anticancerígenos y antiparasitarios.³⁵

2.3.2.1. Dinámica de los microtubulos

Los microtúbulos experimentan un proceso conocido como inestabilidad dinámica a través del cual los polímeros de microtúbulos se someten a períodos prolongados de ensamblaje seguido de períodos de rápido desmontaje, es decir ocurre una fluctuación entre las fases de alargamiento y acortamiento.³⁶

De manera general el proceso de inestabilidad dinámica de los microtubulos se asocia a la fijación de GTP al final de la tubulina que conforma los microtúbulos creando una cápsula GTP-estable que previene microtúbulos de las despolimerizinas cuando ocurre la hidrólisis de GTP, el microtúbulo se vuelve inestable y despolimeriza por la curvatura hacia afuera de protofilamento individuales. En la **Figura 8** se muestra estructura de los microtubulos cuando el GDP está sustituido por GTP en las subunidades de la tubulina desarmada y el ciclo comienza de nuevo repetidamente.³⁷

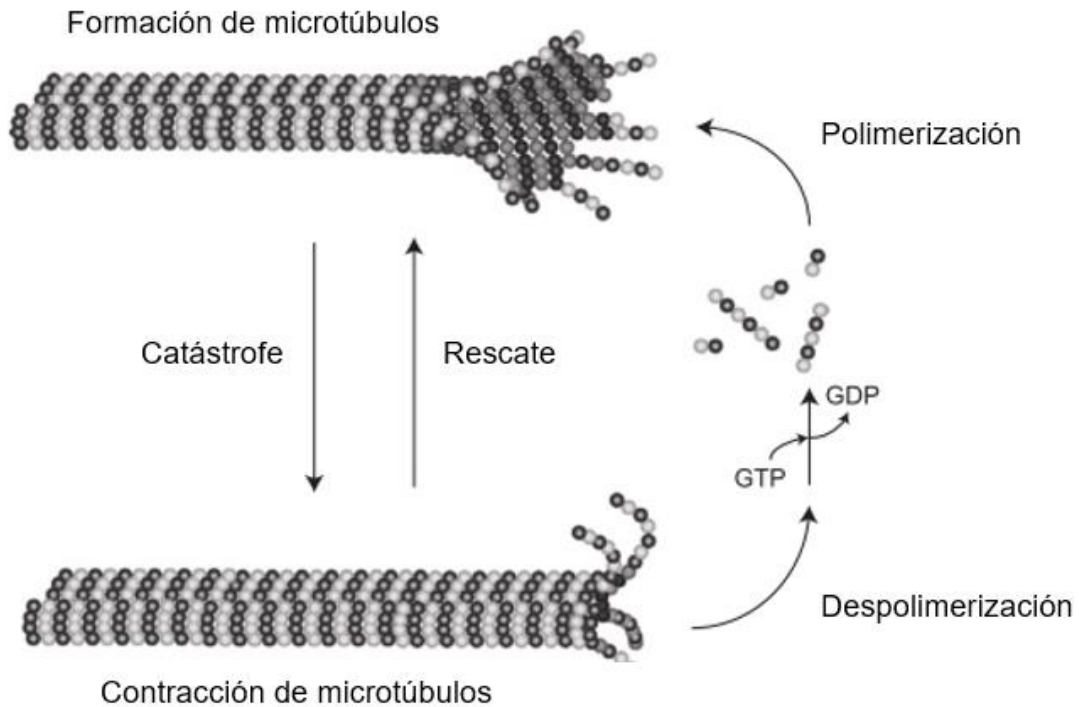


Figura 8.- Dinámica de los microtúbulos.³⁸

La dinámica intracelular de los microtúbulos es regulada con alta precisión, algunos factores intrínsecos como la asociación de microtúbulos-proteínas y proteínas motoras de microtúbulos (quinasas) ofrecen un control preciso del proceso; la actividad del proceso descrito se aprecia incrementada durante la mitosis con respecto a la interfase, haciendo a las células mitóticas altamente susceptibles a fármacos cuya diana sean los microtúbulos, lo que ha posicionado a los microtúbulos como un blanco importante en el diseño de fármacos anticancerígenos, puesto que al alterar la dinámica de los microtúbulos se previene la división celular en la mitosis.^{39,40}

2.3.2.2. Estructura de la tubulina

Los microtúbulos dan lugar a complejas estructuras celulares con diversas morfologías y comportamientos incluyendo la matriz neuronal compleja. Sus subunidades estructurales básicas son las α,β -tubulinas, que en las células interactúan constitutivamente para formar una unidad funcional estable, el heterodímero de la tubulina. Los heterodímeros de α / β -tubulina se ensamblan dinámicamente en protofilamentos polarizados, los cuales, por contactos lado a lado, forman el polímero MT cilíndrico y hueco. Las tubulinas se pliegan en estructuras tridimensionales altamente conservadas que forman el cuerpo globular compacto de la proteína y terminan con colas C-terminales cargadas negativamente y estructuradas. Esta estructura global de tubulina es invariable entre todos los isotipos de tubulina y se conserva en todas las especies eucariotas, lo que explica el alto grado de conservación de la estructura de los microtúbulos a lo largo de la evolución. Sorprendentemente, la estructuras 3D de las subunidades de las subunidades α / β -tubulina son muy similares, a pesar de que comparten solamente aproximadamente un 40% de homología de aminoácidos.⁴¹

En la **Figura 9** se muestra la estructura cristalina del heterodímero de tubulina [PDB ID1JFF;], donde se ilustran las regiones funcionalmente importantes en la β -tubulina. Se destacan los bucles T2, T3, T4, T5, H1-S2 del dominio N-terminal, los bucles M, H6-H7, T7 y hélice H8 del dominio intermedio y las hélices H11, H12 del dominio C-terminal. La α -tubulina también sigue el mismo esquema estructural secundario. Las colas C-terminales de α y β -tubulina, que están dibujadas esquemáticamente en rosa, no se resuelven en la estructura cristalina.

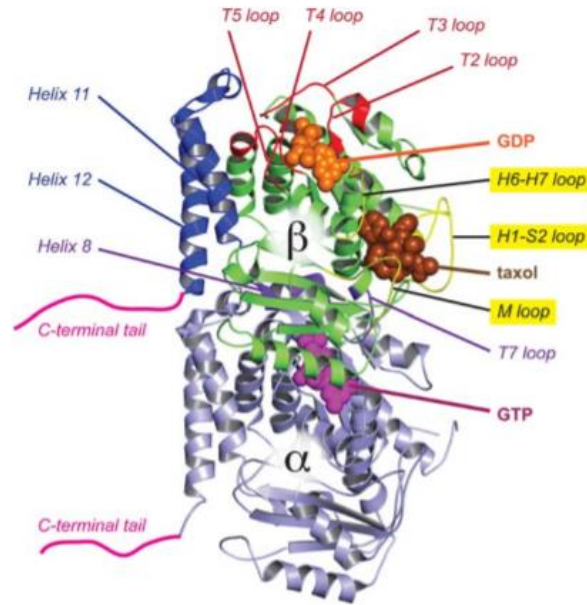


Figura 9 Estructura cristalina del heterodímero de tubulina (PDB ID1JFF).

2.3.2.3. El código de la tubulina

Combinación de isotipos de tubulina y las modificaciones Post-Traduccionales (PTMs) se encargan de generar la diversidad de microtúbulos en células y se espera que se traduzca con variaciones de propiedades intrínsecas en los microtúbulos y que sea leído por proteínas asociadas a microtubulos (MAP) y a proteínas motores. La heterogeneidad de MTs puede ser generada por dos procesos moleculares diferentes, la expresión de diferentes genes de tubulina, llamados isotipos (A), o la generación de PTMs (B). Los isotipos de tubulina son más variables dentro de las regiones de la cola C-terminal. Se representa esquemáticamente la secuencia de aminoácidos de todas las colas C-terminales de α - y β -tubulina humana. Las PTMs pueden ocurrir en el cuerpo de la tubulina, o dentro de la región C-terminal de la cola. La acetilación de la lisina 40 se localiza hacia el interior de MTs polimerizadas, mientras que la poliaminación y la fosforilación por Cdk1 pueden interferir con el montaje de microtúbulos. Las modificaciones de poliglicilación, poliglicilación, destirosinación y seguimiento tienen lugar en las colas C-terminales de la tubulina y por lo tanto alteran la superficie de MTs ensambladas. Este proceso se ejemplifica en la **Figura 10**.^{41,42}

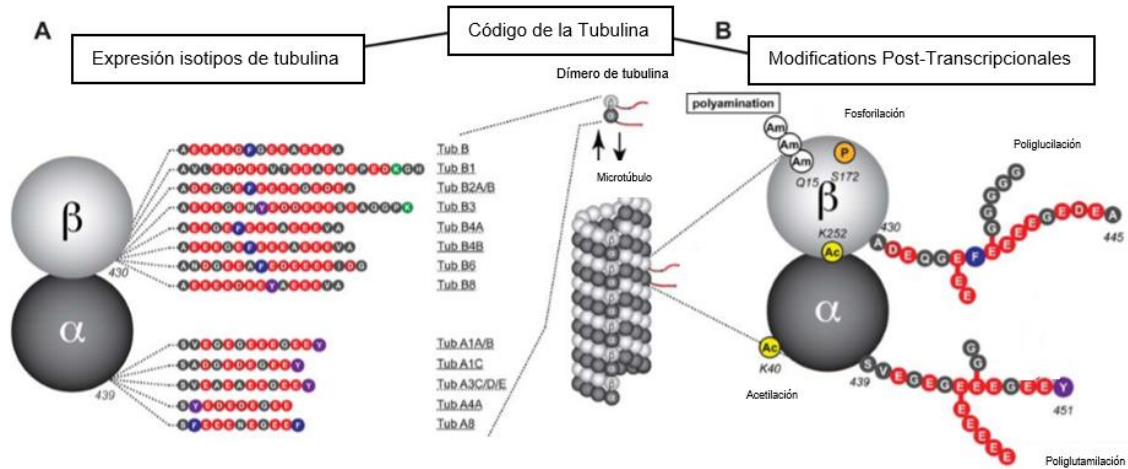


Figura 10.- Código de la tubulina.

2.2.3. Inhibidores de tubulina

Existen varios fármacos que se unen al complejo tubulina-microtúbulos que poseen la capacidad de interferir con la dinámica de los microtúbulos. Dichos fármacos se conocen como Agentes de unión a tubulina, TBA -Tubulin Binding Agents- y se consideran como potentes antimitóticos. De acuerdo a su mecanismo de acción, se dividen en fármacos estabilizadores y fármacos desestabilizadores de microtubulos.⁴³

Los agentes estabilizadores polimerizan la tubulina iniciando la polimerización de dicha proteína, así como sobre-estabilizando los microtúbulos existentes durante las condiciones normales de desestabilización. Por su parte, los agentes desestabilizantes inician el ensamble de heterómeros de tubulina en polímeros de microtúbulos o despolimerización de los ya existentes, reprimen la dinámica de los microtúbulos, inhiben la proliferación celular retrasando o bloqueando la transición de metafase-anafase en la mitosis.^{44,45}

Los fármacos estabilizadores o desestabilizadores, previamente descritos, poseen afinidad a diferentes sitios de unión ubicados en la tubulina.⁴³ Se sabe que estos fármacos interactúan con la tubulina a través de al menos cuatro sitios de unión: los sitios de la laulimalida, taxano/epotilona, alcaloides de la vinca, rifaxozina, y colchicina, como se muestran en la **Figura 11**⁴⁶

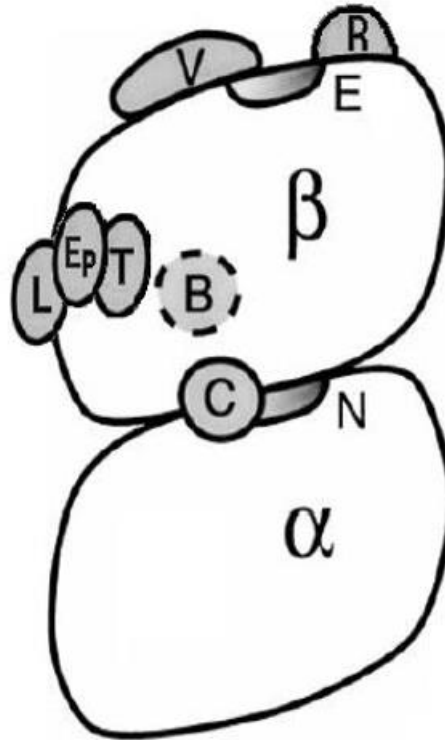


Figura 11.- Representación de los sitios de unión de las moléculas al heterodímero α/β -tubulina.

T:Taxol, V:Vinblastina, C:Colchicina, L:Laumalida, R:Rizoxina F, Ep:Epotilona, B, posible sitio de unión de benzimidazoles.⁴⁷

2.3.4. Fármacos estabilizantes de microtúbulos

Los fármacos estabilizantes de microtúbulos (MSA) comparten dos rasgos comunes a concentraciones micromolares: reducen la concentración equilibrada de tubulina libre (concentración crítica) en el sistema in vitro de polimerización de tubulina; a concentraciones submicromolar o nanomolar, se considera que los MSA suprimen la dinámica de los microtúbulos, conduciendo a la formación de filamentos más estables. Es necesario mencionar, que se cree también que los destabilizantes comparten el mismo mecanismo de supresión que los fármacos estabilizantes empleados a bajas concentraciones.⁴⁸

Hasta la fecha, al menos dos sitios de unión a tubulina para fármacos estabilizantes han sido confirmados: el sitio de unión al taxol localizado en β -tubulina en el lado luminal y el sitio laulimalida / pelorusida también localizado en β -tubulina pero en la superficie externa de los microtúbulos.⁴⁹

Respecto al mecanismo, todo apunta al bloqueo mitótico que conlleva a la muerte celular programada, lo que se ha confirmado entre otras investigaciones, por medio de análisis de citometría de flujo, en los cuales se muestran que la mayoría de las células apoptóticas están bloqueadas en la etapa G2 / M del ciclo celular; mientras que algunos se someten a detención o reintroducción en la interfase.⁴⁸

2.3.4.1. Taxanos

El Paclitaxel se une reversiblemente a microtúbulos *in vitro*, estimulando la polimerización de microtúbulos y suprime la inestabilidad de la dinámica de microtúbulos. A altas concentraciones aumenta la masa de los polímeros de microtúbulos como consecuencia de la supresión de la disociación de tubulina. A bajas concentraciones detiene la proliferación celular bloqueando el ciclo celular en la transición metafase/anafase conduciendo a la célula a apoptosis.⁴⁹ Las moléculas afines al sitio del taxol se unen directamente a la subunidad β del dímero α,β -tubulina. Los residuos Phe270 y Ala364 ejercen un rol fundamental en la unión de taxol y análogos.⁵⁰

Junto con las antraciclinas, los taxanos son los fármacos citotóxicos más eficaces en el tratamiento del cáncer de mama puesto que ambos equilibran la eficacia contra la toxicidad. Recientemente, se ha identificado que en uso adyuvante, la toxicidad de taxanos en mujeres mayores es más amplia que en sus contrapartes más jóvenes. Adicionalmente los taxanos cada vez con mayor frecuencia se usan solos o combinados con antraciclinas para reducir el riesgo cardíaco, especialmente en pacientes HER-2 positivos que pueden desarrollar eventos cardíacos relacionados con trastuzumab. En pacientes de edad avanzada con metástasis, la administración semanal de paclitaxel y docetaxel están entre las piedras angulares del tratamiento metastásico para pacientes HER-2 positivos, con

toxicidad generalmente aceptable, y el empleo de taxanos es el tratamiento de primera elección en pacientes con metástasis.^{51,52}

Los fármacos más usados son el paclitaxel para cáncer de ovario, seno, pulmón, y docetaxel para los padecimientos antes mencionados y cáncer de próstata, cuyas estructuras se presentan en la **Figura 12**.

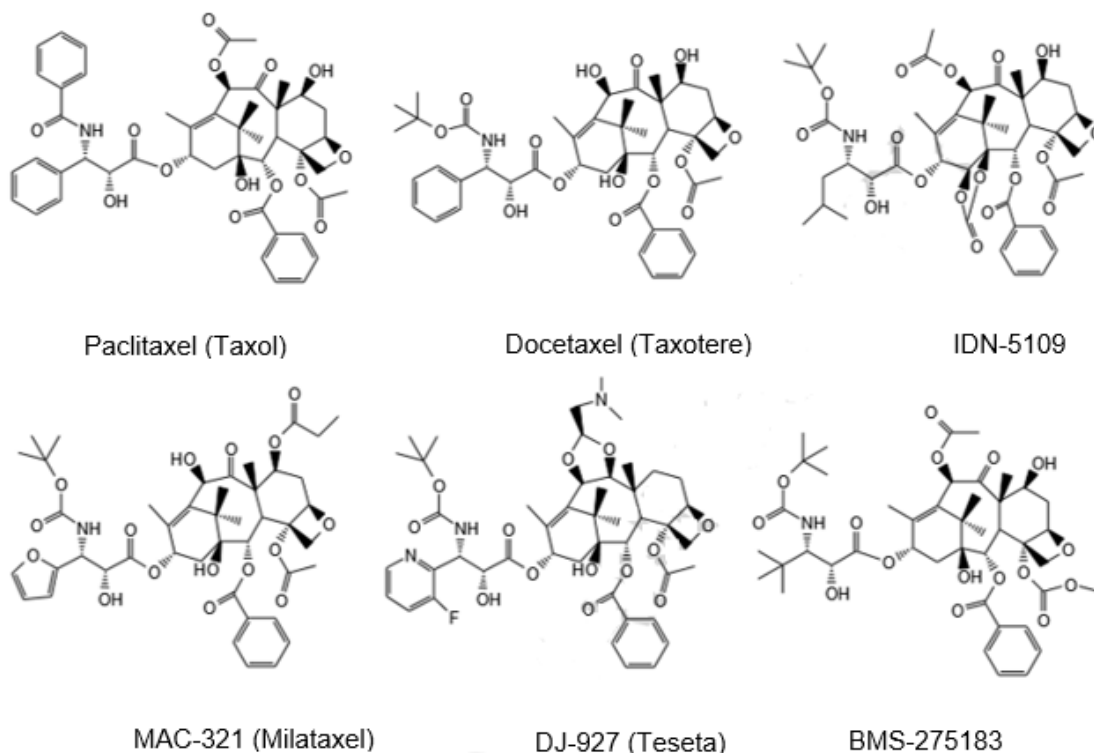


Figura 12.- Taxanos en uso clínico o ensayo clínico.

2.3.4.2. Derivados de taxol, investigaciones actuales

A continuación, se presenta información de las investigaciones actuales más prometedoras en el área de diseño de moléculas con actividad análoga a los taxanos.

2.3.4.2.1. Incorporación de un flúor a la estructura de toxoides.

Iowa Ojima y colaboradores, en la universidad Stony Brook diseñaron nuevos fármacos conjugados dirigidos a tumores, que portan un fluorotaxoide. Los átomos de flúor y CF_3 se incorporaron estratégicamente en los conjugados. Con estas moléculas esperan tener una alta estabilidad en el plasma sanguíneo, mientras que la liberación del fármaco en las células cancerosas se desarrolla suavemente. Sin embargo, aún se busca mejorar la formulación del fármaco. Las moléculas sintetizadas por Ojima y colaboradores se muestran en la **Figura 13**⁵³

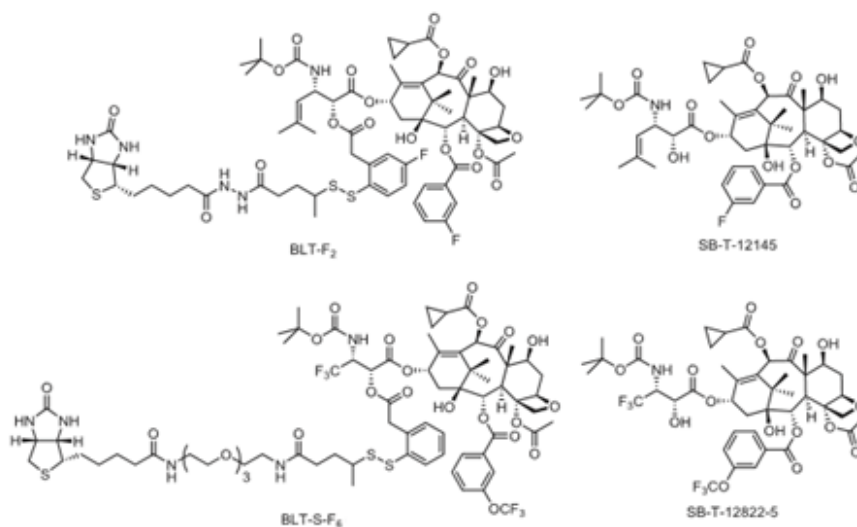


Figura 13. Incorporación de un flúor a la estructura de toxoides.

2.3.4.2.2. Modificaciones estructurales de taxanos

J Fernando Díaz en colaboración con Iwao Ojima desarrollaron cuatro taxanos con modificaciones químicas en las posiciones C10 y C13, los cuales demostraron ser activos contra todos los tipos de líneas celulares resistentes a taxanos; ya sea que dicha resistencia este dada por mutaciones en el sitio de unión

de β -tubulina o por sobreexpresión del β -III, un isotipo tubulínico altamente dinámico. Además, caracterizaron la interacción de taxanos observando alta actividad con microtúbulos en células tumorales resistentes a la quimioterapia y también estudiaron sus efectos celulares. La propiedad bioquímica mejorada respecto a otros taxanos es su potencia en la inducción del montaje de la tubulina. El efecto de los compuestos en la red microtubular es diferente de los observados con el docetaxel clásico y el paclitaxel, induciendo diferentes agrupaciones en células con microtúbulos muy cortos, indicando un efecto de nucleación muy rápido y reflejando su alto poder de inducción en el ensamblaje. Las estructuras modificadas y analizadas se presentan en la **Figura 14.**⁵⁴

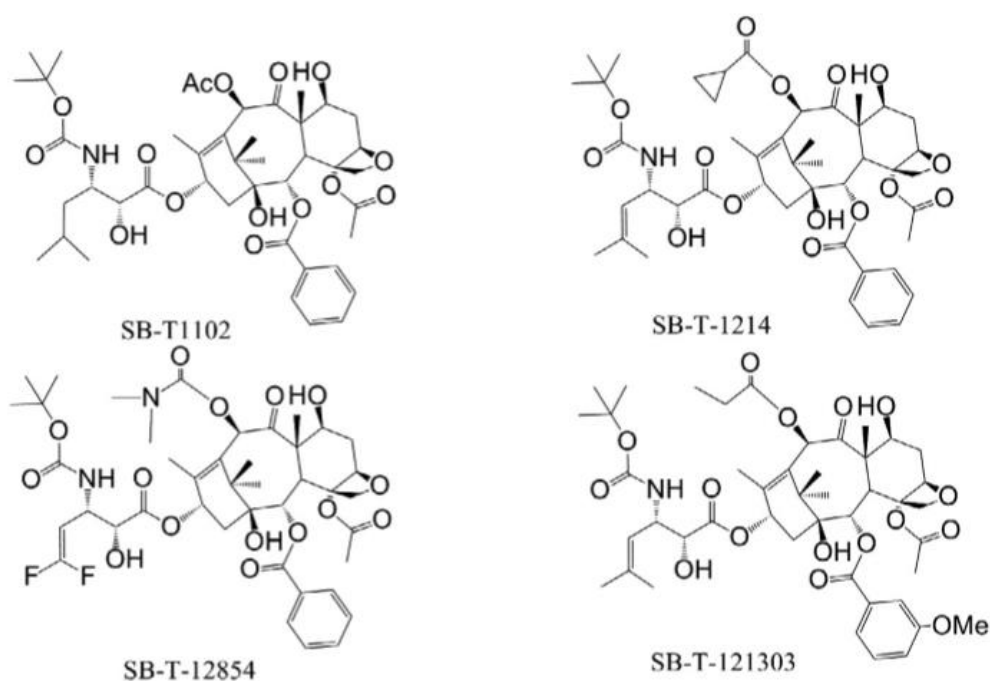


Figura 14.- Análogos estructurales de taxanos.

2.3.4.3. Epotilonas

Las epotilonas son un grupo de compuestos con mecanismos de acción similares a los taxanos. Las epotilonas, compuestos macrólidos aislados de la Bacterias gram negativas del grupo de las myxobacterias *Sorangium cellulosum*, se dividen en tres grupos principales, epotilonas A, B y D. Aunque estructuralmente distintas de los taxanos, también estabilizan la microtubulina y comparten regiones de un farmacóforo común. Las epotilonas tienen varias propiedades que favorecen su desarrollo como fármacos: son más solubles en agua que los taxanos, parecen no ser afectados por los mecanismos de resistencia a múltiples fármacos, son activos en líneas celulares resistentes a taxanos y xenoinjertos.⁵⁵

Las Epotilonas B son las epotilonas más clínicamente avanzadas como el caso de ixabepilona (BMS 247560), patupilona (EPO906) y sagopilona (ZK-EPO). A pesar de diferencias estructurales relativamente menores, estas epotilonas demuestran perfiles distintos en términos de toxicidad y también de eficacia. Estudios recientes compararon los efectos de la epotilona A (Epo A) y la epotilona B (Epo B) en el cáncer de ovario con paclitaxel, dichos estudios indican una eficacia superior a los taxanos.^{55,56}

El 16 de octubre de 2007, la FDA (Agencia de Alimentos y Medicamentos) aprobó la ixabepilona para inyección (Ixempra™, fabricada por Bristol-Myers Squibb) para las dos indicaciones siguientes: en combinación con capecitabina para el tratamiento de pacientes con cáncer de mama metastásico o localmente avanzado resistente al tratamiento con una antraciclina y un taxano, o cuyo cáncer es resistente a los taxanos y para los que está contraindicada la terapia con antraciclinas. Adicionalmente, la ixabepilona está indicada como monoterapia para el tratamiento del cáncer de mama metastásico o localmente avanzado, en pacientes cuyos tumores son resistentes o refractarios a antraciclinas, taxanos y capecitabina.⁵⁷

La Sagopilona que se empleaba en el tratamiento de varios tipos de cáncer, tras la conclusión de un ensayo clínico en 2013 fue aprobada como terapia para

tratar el melanoma. Las sagopilonas más significativas se muestran en la **Figura 15**.⁵⁸

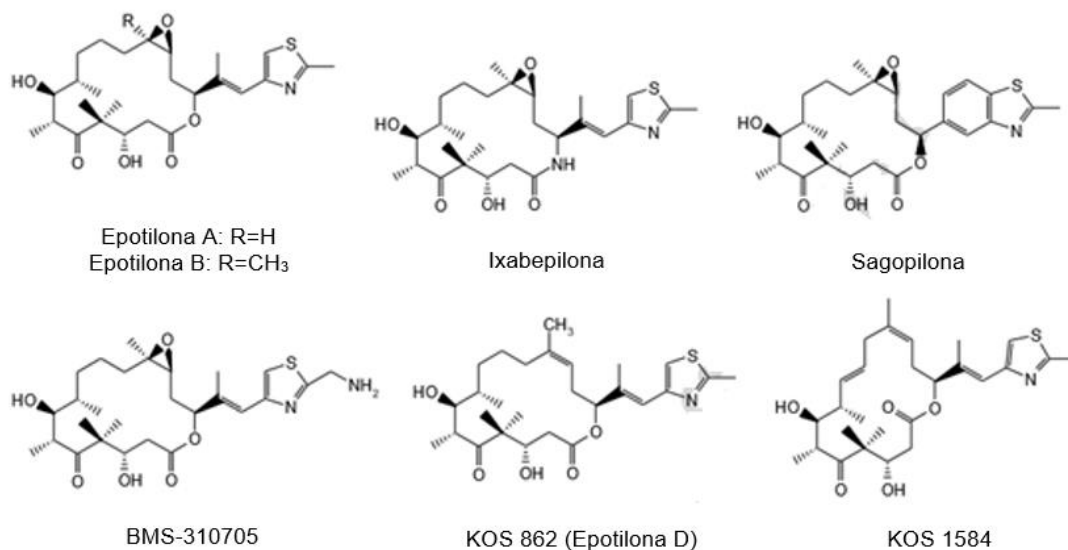


Figura 15. Epotilonas en uso clínico o ensayo clínico.

2.3.4.4. Derivados de epotilonas, investigaciones actuales

2.3.4.4.1. Síntesis de compuestos que presentan metilaciones en la estructura de la Epotilona D

Yue Chen y colaboradores completaron la síntesis total de epotilona D y sus análogos con metilaciones en el carbono 9, mediante una estrategia combinatoria, la cual involucró un precursor común y varios aldehídos. El enfoque combinatorio es altamente eficiente para la preparación de análogos de epotilona con modificación en la posición C9. También realizaron estudios computacionales para determinar la conformación bioactiva y explicar la actividad biológica. Uno de los compuestos preparados mostró una actividad significativamente mayor (aproximadamente 35 veces) que Epotilona D. También realizaron estudios de polimerización de la tubulina y los resultados fueron consistentes con la inhibición de la actividad de nuevo crecimiento de las células cancerosas. La epotilona D y las

estructuras de los análogos generados en esta investigación se muestran en la **Figura 16**.⁵⁹

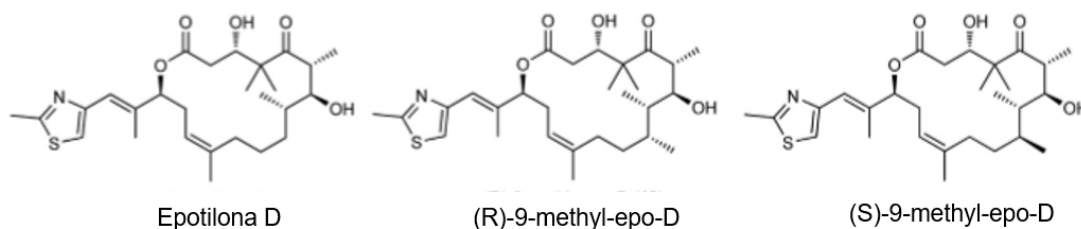


Figura 16. Epo D y sus análogos metilados.

2.3.4.5. Laulimalida

Propician la estabilidad de los microtúbulos mediante la estabilidad del bucle M de la β -tubulina y por interacción con un segundo dímero de tubulina del protofilamento adyacente. Estabilizan alostéricamente el circuito M del sitio de taxano que establece contactos tubulínicos laterales en los microtúbulos. Estabilizan sinérgicamente el sitio de los taxanos, por lo que la administración conjunta ejerce un efecto alostérico favoreciendo la unión de los taxanos.⁶⁰

Las moléculas representativas de este grupo son Laulimalida y Pelorusida A (**Figura 17**). La Laulimalida ha mostrado buenos resultados en estudios basados de inhibición de crecimiento de células cancerígenas y resultados optimistas también en estudios de farmacocinética. Esta molécula al igual que otros estabilizantes de microtúbulos inhibe la migración celular.⁶¹

Por su parte Pelorusida A presenta resultados prometedores en estudios preclínicos en ratones, mostrando una regresión tumoral superior a los taxanos. Aunque hasta el momento no hay ensayos clínicos que evalúen su eficiencia. Adicionalmente, inhibe la migración celular y la formación de tubos capilares

(resultados no publicados). También reduce la progresión de la esclerosis múltiple en un modelo de ratón.⁶²

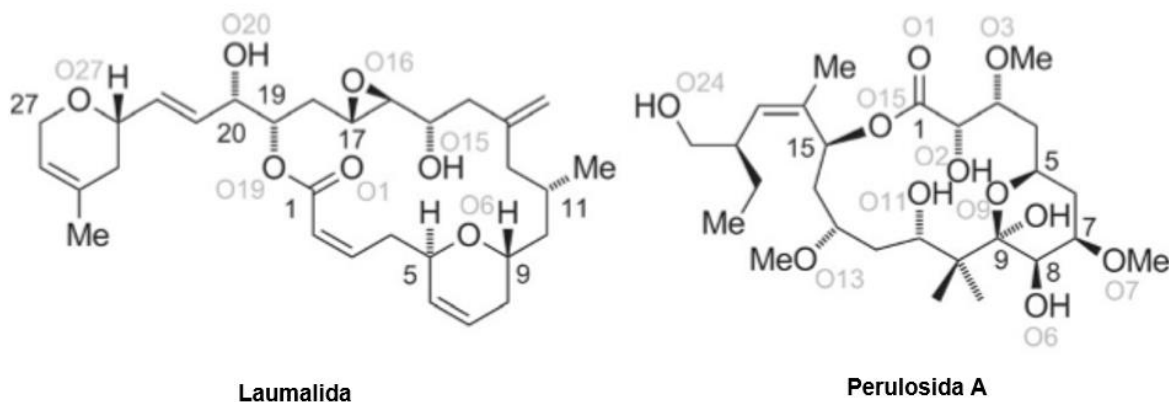


Figura 17.- Estructuras moleculares de Laumalida y Pelulosida A

2.3.4.6. Pelulosida y Alzheimer

En pacientes con Alzheimer se observa pérdida severa de la estabilidad de microtúbulos debido a la presencia de proteína tau, principalmente por hiperfosforilación, plegamiento anormal y arresto de la tau en agregados insolubles. Muchos estudios han proporcionado fuerte evidencia de que estabilizadores de microtúbulos, especialmente análogos de Pelulosida A pueden ser empleados para compensar la pérdida de estabilidad de los microtúbulos por acción de la antes mencionada Tau. Por tal motivo la Pelulosida A ha comenzado a ser investigada como un fármaco potencial en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer adicionalmente a su efecto anticancerígeno.⁶³

2.3.5. Fármacos desestabilizantes de microtúbulos

Esta clase de fármacos se une a los dímeros de tubulina y previenen su ensamblaje en la despolimerización de microtúbulos. En células tratadas con estos fármacos se aprecia pérdida completa de las redes de microtúbulos. Los fármacos desestabilizantes de microtúbulos pueden unirse dentro de la tubulina al sitio de la Vinca o al de la colchicina, ambos ampliamente estudiados.⁶⁴ Al igual que en el caso de los fármacos estabilizantes, existen varios fármacos de este subgrupo empleados desde hace varios años, algunos otros potenciales fármacos se encuentran en estudios clínicos y existe un amplio número de investigaciones en torno a este tema. En las siguientes páginas se describirán los fármacos desestabilizantes de microtúbulos más comunes y los avances más representativos en el desarrollo de fármacos con actividad análoga.

2.3.5.1. Alcaloides de la Vinca

Los alcaloides de la vinca se han usado medicinalmente desde el 1600s; sin embargo, su actividad anti-proliferativa no fue descubierta hasta finales de los años 1950s.⁴⁴

El dominio de la vinca se localiza en la interfase interdimérica $\alpha\beta$ (entre dos heterodímeros) con secuencias primarias alrededor de α -339 y β -390 residuos; la unión de ligandos en este sitio inhibe el ensamblaje de la tubulina, causando una "cuña" entre los dos heterodímeros. Esto da como resultado una reticulación longitudinal de dos heterodímeros en la interfase interdimérica y bloquea la interfase requerida para la polimerización. Como consecuencia se tiene una célula no dividida, con cromosomas enteros. A diferencia de la colchicina, los alcaloides de la vinca se unen a tubulina rápidamente y de forma reversible.^{44,65} En la **Figura 18** se presenta un esquema que representa el comportamiento de los microtúbulos en presencia de los alcaloides de la vinca.

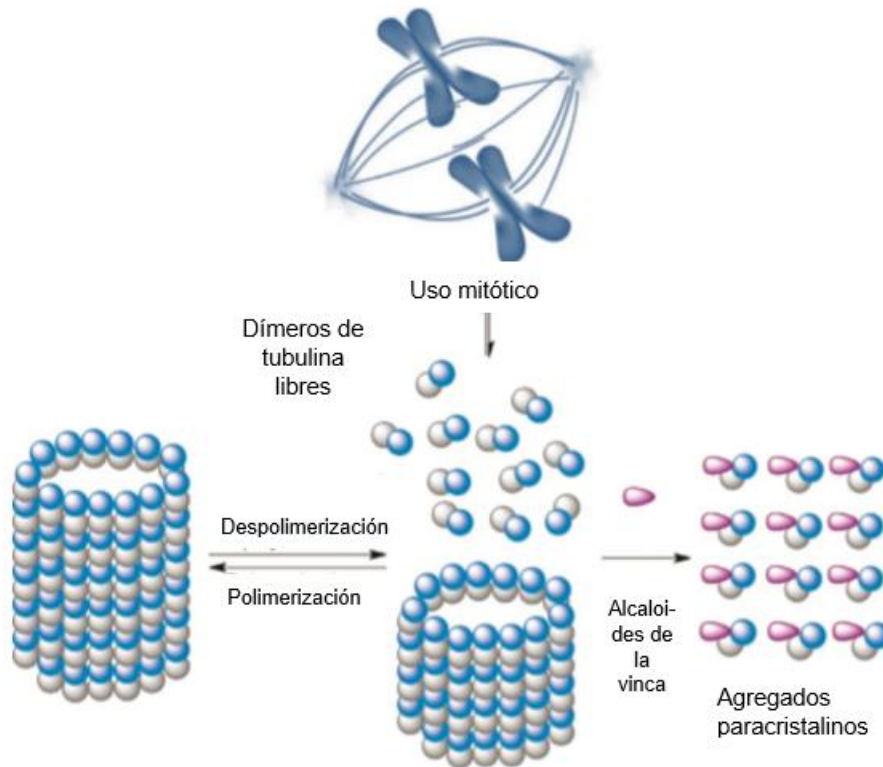


Figura 18.- Despolimerización de microtúbulos tras la exposición a alcaloides de la vinca

La vincristina y la vinblastina son moléculas complejas producidas por las hojas de la rosácea *Catharanthus roseus* (*Vinca rosea*). La vincristina, también conocida como leurocristina, es un fármaco empleado para tratar varios tipos de cáncer. Esto incluye la leucemia linfocítica aguda, la leucemia mieloide aguda, la enfermedad de Hodgkin, el neuroblastoma y el cáncer de pulmón de células pequeñas, entre otros.⁶⁶

El sulfato de vincristina está indicado en la leucemia aguda. En combinación con otros fármacos se usa para tratar la enfermedad de Hodgkin, linfomas malignos no Hodgkin, rhabdomiosarcoma, neuroblastoma, tumor de Wilms, sarcoma osteogénico, cáncer de mama y leucemia.⁶⁵

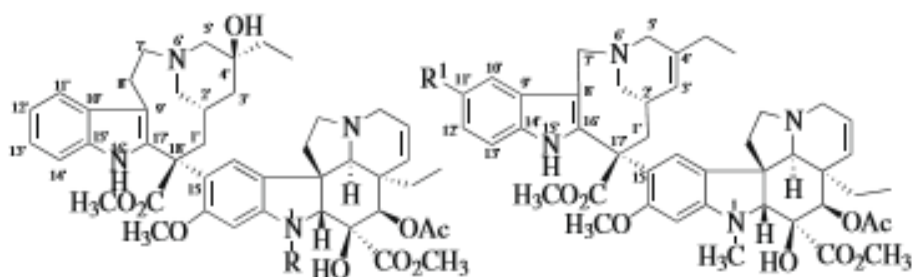
La Vinorelbina es empleada para el tratamiento de linfomas, cáncer de pulmón y de mama. Recientemente, el estudio clínico NCT00702182 demostró que la administración de este fármaco en combinación con Erlotinib posee un efecto sinérgico en el tratamiento de cáncer de células de pulmón no pequeñas.⁶⁶ La

Vinorelbina se encuentra también en estudios clínicos en tratamiento conjunto con Lapatinib (un inhibidor de la tirosincinasa) como posible herramienta en el tratamiento del cáncer de mama, además se encuentra en curso otro estudio en pacientes pediátricos con glioma de bajo grado.⁶⁷

La vinflunina es un nuevo miembro de la familia de los alcaloides de la vinca caracterizado por su actividad antitumoral superior en comparación con la de los fármacos previos de la misma familia. La vinflunina tiene características distintas en comparación con la vinorelbina: ha mostrado tener mayor actividad antitumoral contra un gran panel de xenoinjertos tumorales humanos; Se une con relativamente poca afinidad a la tubulina, lo que sugiere un perfil de tolerancia mejorado como resultado de una menor neurotoxicidad. Los estudios preclínicos mostraron que las líneas celulares P388 de leucemia resistentes a la vinorelbina son sensibles a la vinflunina debido a sus efectos mejorados en las vías apoptóticas que siguen a la detención de G2 / M. El perfil farmacológico mejorado de la vinflunina sobre los alcaloides de la vinca condujo a iniciar estudios clínicos en 1998. La vinflunina utilizada en la monoterapia fue aprobada por la EMA para el tratamiento de pacientes con carcinoma de células transitorias avanzadas o metastásicas del tracto urotelial (TCCU).^{68,69}

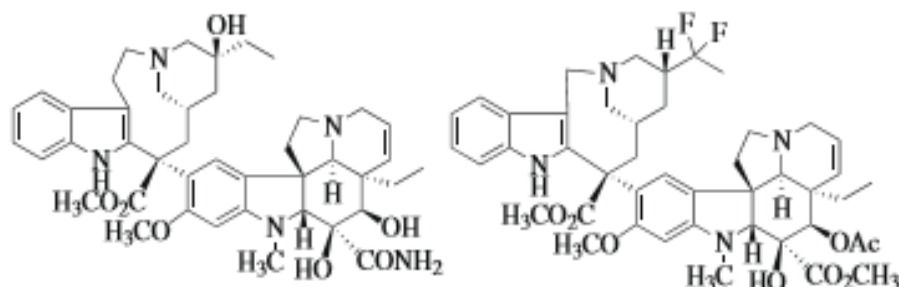
La vinflunina, además de emplearse en los casos anteriormente mencionados, se encuentra en evaluación en varios ensayos clínicos; administrada conjuntamente con Pazopanib en cáncer urotelial de la vejiga, en cáncer de próstata y recientemente se registró un estudio que aún se encuentra en la fase de reclutamiento de pacientes para estudiar el efecto en cáncer metastásico de pene.⁷⁰

Las moléculas previamente mencionadas se muestran la **Figura 19**.

Vinblastina R= CH₃

Vinorelbina R'=H

Vincristina R= COH



Vindesina

Vinflunina

Figura 19.- Alcaloides de la vinca

Existen productos naturales obtenidos de especies marinas que son también afines al sitio de unión de los alcaloides de la vinca, y por ende poseen actividad análoga a los fármacos previamente estudiados. Entre ellos se encuentra la dolastatina, la soblidotina y la erubulina.

La dolastatina se aisló de *Dolabella auricularia*, liebre marina, y se ha encontrado que tiene efectos citotóxicos sobre varias células tumorales. Teniendo en cuenta la muy pequeña cantidad aislada de la liebre marina, se hicieron esfuerzos para la síntesis total, lo que permitió la obtención de la dolastatina 10 (**Figura 20**); se ha demostrado que las dolastatinas inducen la apoptosis en diversas líneas celulares tumorales, incluyendo cáncer de mama, cáncer de pulmón,

leucemias y linfomas. El mecanismo de inducción de la apoptosis es más probable que sea una regulación positiva de la molécula proapoptótica Bax y la regulación negativa simultánea de la molécula anti-apoptótica Bcl-2. Las dolastatinas fueron estudiadas en ensayos clínicos sin embargo no se obtuvieron resultados positivos.⁷¹

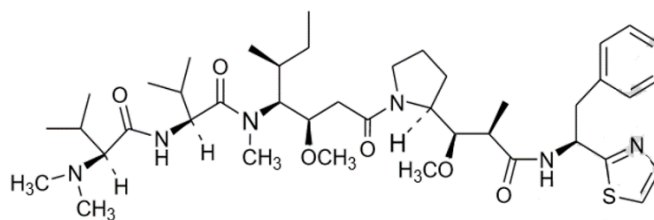


Figura 20.- Estructura de ladDolastatina 10

La conjugación de dolastatina15 con trastuzumab ha demostrado un efecto sinérgico para inhibir las células positivas a Her2 *in vitro* e *in vivo*.⁷² Sin embargo, la dolastatina 10 ofreció un punto de partida lógico para futuros estudios clínicos y diseño de fármacos sistémicos que finalmente condujeron al análogo Soblidotina (TZ1027).

La soblidotina fue diseñada con el objetivo de mantener la potente actividad antitumoral al tiempo de reducir la toxicidad de los compuestos progenitores. Sólo difiere de la dolastatina 10 en la sustitución del residuo de aminoácido de dolafenina terminal con un grupo fenilamina simple. Sin embargo, tanto la soblidotina como la dolastatina 10 comparten los mismos mecanismos de actividad.⁷³

La soblidotina o TZT-1027, cuya estructura química se presenta en la **Figura 21**, ha mostrado en ratones una inhibición significativa del crecimiento de la leucemia P388 y la disminución de tres líneas celulares tumorales sólidas (melanoma B16, adenocarcinoma de colon 26, y sarcoma M5076). Además, TZT-1027 es otro producto natural que ha mostrado actividad inhibitoria contra carcinoma de mama carcinoma de pulmón. El compuesto se encuentra actualmente en tres fases diferentes de los ensayos clínicos (Fase I, II, III), con diferentes empresas en

Japón, Europa y Estados Unidos con diferentes empresas que lo utilizan vinculado a través de péptidos modificados a anticuerpos monoclonales específicos.⁷⁴

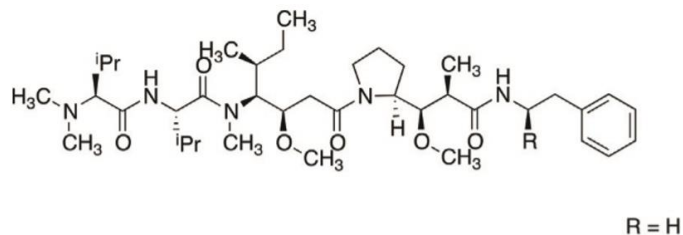


Figura 21.- Estructura de la soblidotina

2.3.5.2. Derivados de alcaloides de la vinca, investigaciones actuales

2.3.5.2.1.- Elaboración exitosa de alcaloides de vinca con estructuras simplificadas como agentes antimitóticos basados en similitud farmacofórica

Investigadores del Instituto de Medicina Tradicional y Productos Naturales de la universidad Jinam de China sintetizaron compuestos con actividad análoga a la de los alcaloides de la vinca, mediante una simplificación de la estructura química de estos alcaloides basándose en la similitud farmacofórica. Además, lograron desarrollar con éxito un proceso de pocos pasos para la síntesis de compuestos con rendimientos de bajos a excelentes (19 - 98%). Las actividades inhibitorias del crecimiento celular de los compuestos sintetizados fueron evaluadas en cinco líneas celulares de cáncer incluyendo MCF-7, MDA-MB-231, HepG2, HepG2 / ADM y K562. Casi todos los compuestos exhibieron una actividad antitumoral moderada con CI_{50} óptima. El estudio de Relación Estructura Actividad -conocido como SAR- indica que los sustituyentes electroattractores presentes en el fenilo contribuyen a la mejora de las actividades antitumorales. En la **Figura 22** se muestra el diseño realizado manteniendo la similitud farmacofórica.⁷⁵

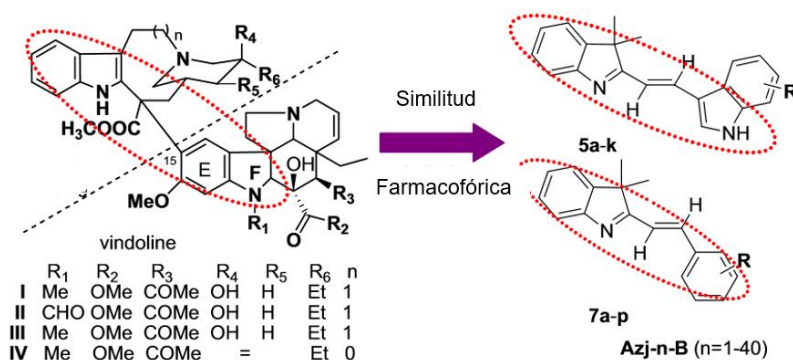


Figura 22.- Compuestos sintetizados.⁷⁵

2.3.5.2.2.-Potentes alcaloides de la vinca

Fanny Roussi y colaboradores desarrollaron en la Academia de Ciencia y Tecnología de Vietnam nuevos alcaloides de la vinca, empleando una inesperada isomerización y formación de enamonios estables en condiciones suaves. Estos compuestos mostraron citotoxicidad a nivel sub-micromolar, y demostraron inhibir el ensamblaje de microtúbulos.⁷⁶ Las moléculas sintetizadas se muestran en el **Figura 23**. Las actividades reportadas por el grupo de Fanny Roussi corresponden a los datos proporcionados en la **Tabla 4**, los datos apuntan a que los derivados novedosos de alcaloides de la vinca, presentan una actividad mayor respecto a la Vinblastina, fármaco empleado como referencia en las pruebas biológicas.

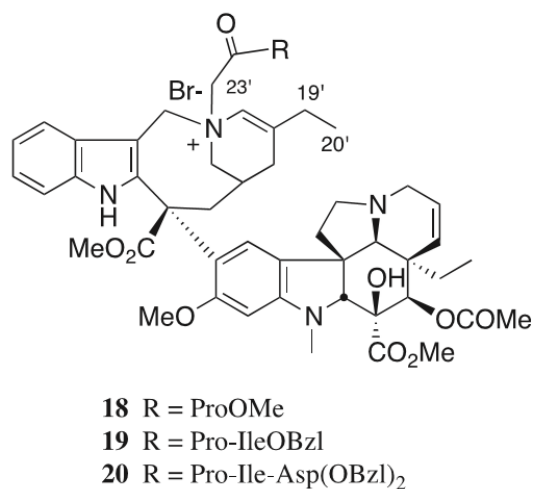


Figura 23.- Novedosos alcaloides de la vinca.⁷⁶

Tabla 4. Evaluación biológica de los compuestos obtenidos por Fanny Roussi y colaboradores ⁷⁶

Compuesto	Ensamblaje de microtúbulos Actividad inhibitoria CI ₅₀ , μM	Citotoxicidad contra línea celular KB. CI ₅₀ , μM
Vinblastina	1.6	0.0014 ± 0.0002
18	58	0.16 ± 0.03
19	14	0.017 ± 0.004
20	8	0.033 ± 0.007

2.3.5.3. Colchicina y sus derivados

La colchicina es un alcaloide extraído de plantas del género *Colchicum* (*Autumn crocus*). El uso terapéutico de la colchicina ha sido bien documentado en la gota y la fiebre mediterránea familiar; se ha utilizado en otras enfermedades incluyendo enfermedad de Behcet (BD), ericarditis, enfermedad coronaria. El mecanismo farmacoterapéutico y las condiciones fibróticas en diversos trastornos no se ha dilucidado completamente. En esta sección analizaremos algunos usos terapéuticos de la colchicina.⁷⁷

2.3.5.4. Alteración de la tubulina y efecto antimitótico de la colchicina

El mecanismo de acción terapéutico más estudiado de la colchicina es su capacidad para unirse a la tubulina, bloqueando así el montaje y la polimerización de los microtúbulos. La colchicina es un fármaco antimitótico clásico que bloquea las células mitóticas en metafase. Se une a la tubulina soluble para formar complejos de tubulina-colchicina de una manera poco reversible, que luego se une a los extremos de los microtúbulos para evitar el alargamiento del polímero de microtúbulos. En concentraciones bajas, la colchicina detiene el crecimiento de los microtúbulos y a concentraciones altas promueve la despolimerización de los microtúbulos. Lamentablemente causa toxicidad severa a los tejidos normales a dosis altas, lo que limita su uso en terapias contra el cáncer. La estructura cristalizada de la colchicina y la tubulina, se muestran en la **Figura 25**.^{77,78}

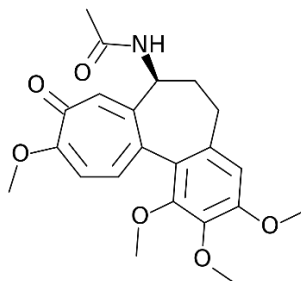


Figura 24.- Estructura de la colchicina

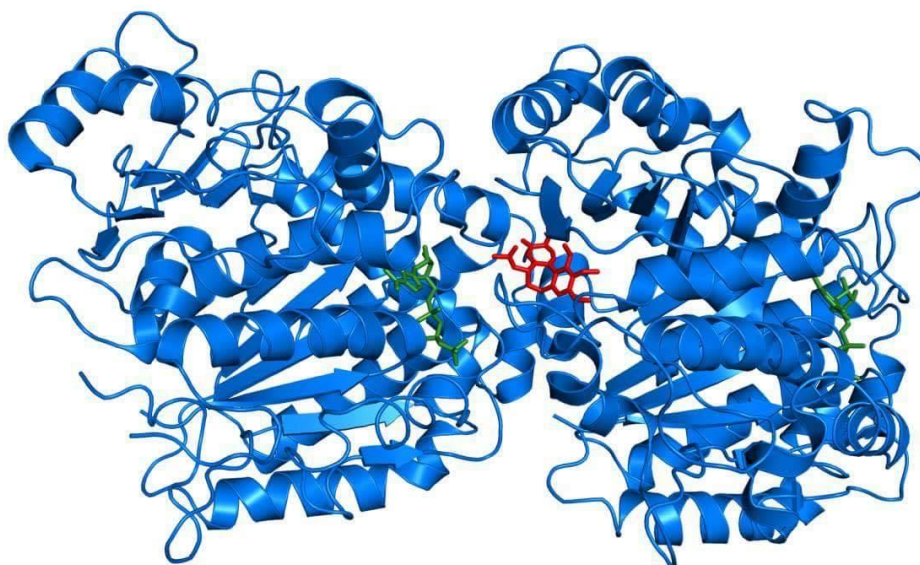


Figura 25.- Tubulina co-cristalizada con Colchicina (estructura en color rojo) y GTP (color verde).

Aunque aún no se ha desarrollado hasta el punto de aplicación clínica en la terapia de cáncer, numerosos compuestos con la capacidad de interacción con el sitio de unión a la colchicina han sido descubiertos en la última década.⁷⁹ Otros efectos de la colchicina sobre el cáncer, incluyen la inhibición de la migración de células cancerígenas y el potencial metastásico,⁸⁰ inhibición de la angiogénesis, limitación de la afluencia de adenosina trifosfato (ATP) en las mitocondrias y reaparición de proteasa dirigida a aspartato dependiente de cisteína y el citocromo-C, dando lugar a la muerte celular apoptótica. La colchicina también tiene efectos anti-inflamatorios, relacionados principalmente con la disrupción de los microtúbulos y la función celular de los leucocitos.⁸¹

2.3.5.5. Usos terapéuticos de la colchicina

La colchicina se ha utilizado de forma recurrente en los ataques de gota, aunque aun se realizan ensayos controlados aleatorios para evaluar la frecuencia óptima de administración y la dosis a administrar. El consenso general para el tratamiento de gota aguda es el uso de dosis bajas de colchicina. Teniendo en cuenta sus potenciales efectos secundarios como son renales, hepáticos y gastrointestinales, es también necesario considerar los ajustes de la dosis. Adicionalmente se ha demostrado la efectividad de la colchicina en la profilaxis de las erupciones de la gota después del inicio de la terapia de reducción del urato.^{82,83}

Enfermedad de Behçet - Enfermedad autoinmune en la que el sistema inmunitario ataca a los capilares produciendo las inflamaciones (vasculitis). Se postula que la colchicina se usa para disminuir la afectación mucocutánea. La colchicina mostró una reducción significativa de las úlceras orales y en el nivel de citocinas inflamatorias séricas IL6, IL8 y TNF α al administrarse en combinación colchicina y levamisol.⁸⁴

La fiebre mediterránea familiar (FMF) es un trastorno autoinflamatorio autosómico recesivo heredado poco frecuente causado por mutaciones del gene FMF en el cromosoma 16p13.3. Afecta generalmente a grupos étnicos alrededor de la cuenca mediterránea. La colchicina representa el tratamiento de primera línea estándar para FMF. Se han desarrollado lineamientos consensuados para el uso crónico de colchicina en niños con FMF.⁸⁵

Pericarditis. En los últimos años se han hecho novedosos e interesantes investigaciones sobre la aplicación de colchicina en el tratamiento de la pericarditis aguda y recurrente, así como el síndrome post-pericardiotomía. Esto es especialmente relevante ya que no hay terapias definitivas para el tratamiento de la pericarditis. En ensayos aleatorios controlados de colchicina para pericarditis recurrente y colchicina para pericarditis aguda, la colchicina administrada como complemento del tratamiento convencional, ha demostrado una reducción significativa en la recurrencia de la pericarditis a los 18 meses de comenzar el

tratamiento. La colchicina añadida al tratamiento antiinflamatorio convencional redujo significativamente la tasa de recurrencias posteriores de pericarditis en sujetos con múltiples recurrencias. También se demostró que la colchicina reduce el riesgo del primer ataque recurrente de pericarditis.^{86,87}

Uso de colchicina en la aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares. Un reciente estudio aleatorio y doble ciego realizado en Canadá consistente en 532 sujetos con enfermedad de la arteria coronaria y que tomaron colchicina demostró una reducción en la incidencia de eventos cardiovasculares agudos.⁸⁸

2.3.5.6. Efectos antivasculares de los inhibidores de tubulina

Los fármacos antivasculares se pueden dividir en dos tipos de acuerdo con la estrategia de diana molecular: agentes antiangiogénicos y agentes disruptores vasculares (VDAs). Los agentes antiangiogénicos actúan sobre las vías de señalización entre las células tumorales, células endoteliales (EC), y las células del estroma para inhibir la formación de nuevos vasos sanguíneos. Aunque fármacos VDAs no han sido aprobados por la FDA, han mostrado un potencial terapéutico significativo y son un foco de investigación actual. Los VDA incluyen principalmente agentes de unión a tubulina tales como las combretastatinas y sus derivados como el CA1P (Oxi4503) y el análogo sintético AVE8062, mismos que se encuentran actualmente en desarrollo preclínico y clínico.^{89,90}

La mayoría de los VDA se unen de forma reversible al sitio de colchicina de la tubulina, mientras que la vinblastina y el paclitaxel se unen a los sitios de alcaloides de la vinca y taxanos, respectivamente, y resultan en la inhibición persistente de los procesos mitóticos y la proliferación. Por ejemplo, ZD6126 - un agente de orientación vascular, relacionado con la colchicina y afín a dicho sitio de unión- ha mostrado resultados prometedores en tumores en ratones en administración conjunta con cisplatino potenciando la disminución de tumores sólidos. ZD6126 estaba siendo investigado por AstraZeneca como un agente de disrupción vascular (VDA). Sin embargo, los ensayos se detuvieron, después de

que se hizo evidente que ZD6126 era demasiado cardiotoxico a las dosis requeridas.⁸⁹

2.3.5.7. Derivados Colchicina, investigaciones actuales

2.3.5.7.1. Agentes de unión al sitio de la Colchicina (CBSI) con actividad de agentes disruptores vasculares

Aunque la colchicina no se utiliza como agente anticancerígeno, como se ha mencionado previamente, se han realizado múltiples esfuerzos para desarrollar agentes de unión al sitio de la colchicina (CBSI). Como los microtúbulos son importantes reguladores de la biología de células endoteliales, una ventaja del mecanismo de acción de las CBSI está dirigida a la vasculatura del tumor. Muchos de estos compuestos poseen actividad de agentes disruptores vasculares; los más representativos se muestran en la **Figura 26** y en los párrafos subsecuentes se exponen características de algunos de ellos.⁹¹

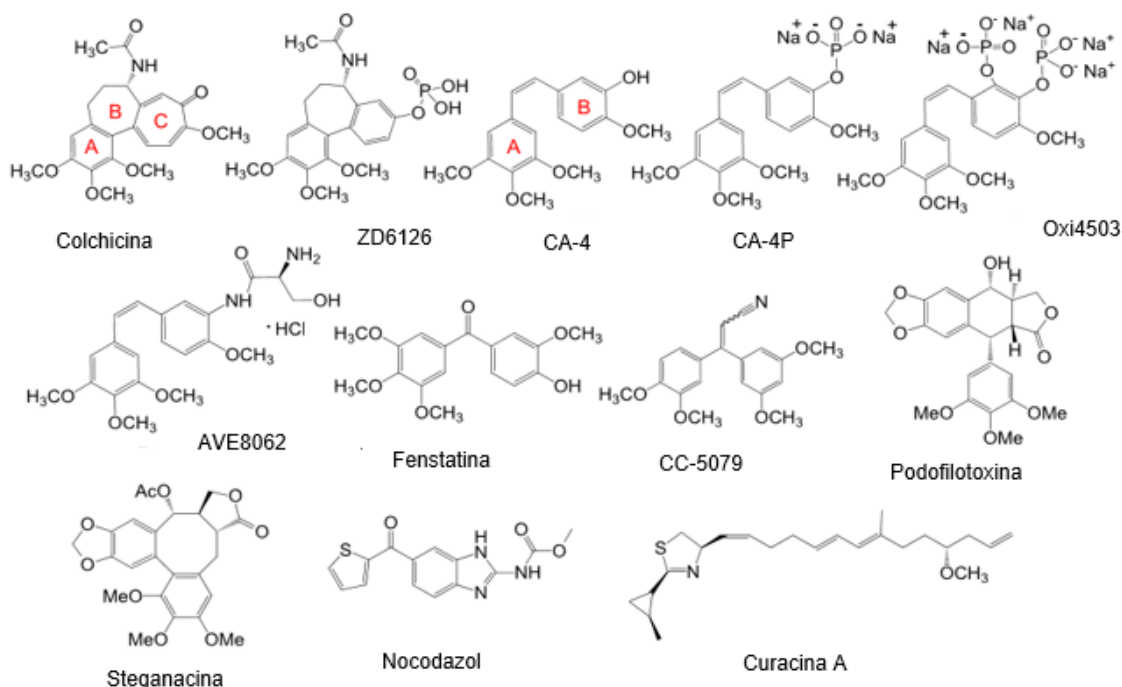


Figura 26.- Agentes de unión al sitio de la colchicina

2.3.5.7.2. Colchicina y ZD6126

Se han realizado varios ensayos clínicos sobre la colchicina en el tratamiento de diversas enfermedades, incluido el cáncer. Sin embargo, el uso clínico en el tratamiento del cáncer se vio obstaculizado por su toxicidad significativa. ZD6126, anteriormente mencionado, es estructuralmente muy similar a la colchicina y posee efectos antiangiogénicos y actividades antineoplásicas.⁹²

2.3.5.7.3. CA-4 y sus análogos

Las combretastatinas son una clase de fenoles estilbenoides aislados de *Combretum caffrum*. La combretastatina A-4 (CA-4) es la combretastatina natural más potente conocida en cuanto a capacidad de unión a la tubulina y citotoxicidad. CA-4P es el pro fármaco de CA-4 desarrollado por OxiGene. Actualmente, se está evaluando en ensayos clínicos como un tratamiento para tumores sólidos. *In vivo*, se desfosforila a su metabolito activo CA-4. Varios estudios de fase II usando CA-4P han terminado o están en curso para diferentes tipos de cáncer incluyendo cáncer de tiroides anaplásico, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de ovario recidivado, etc.⁹³

2.3.5.7.4. Oxi4503

Un análogo estructural de **CA-4**; se ha evaluado en pacientes con leucemia mielógena aguda y refractaria y síndrome mielodisplásico.⁹³

2.3.5.7.5. El AVE8062

Este es otro análogo de CA-4 que ejerce su actividad anticancerígena alterando la formación de vasos sanguíneos en tumores. En comparación con CA-4, tiene una mejor solubilidad en agua y se administra por vía oral. AVE8062 ha mejorado la actividad antitumoral de sus predecesores análogos a CA-4 y ha reducido la toxicidad en un modelo de carcinoma de colon 26 murino. También es eficaz contra varias células cancerosas que son resistentes a los taxanos. En un

estudio de Fase I, la combinación de AVE8062 con docetaxel fue bien tolerada. Actualmente, se está realizando un estudio de Fase III para el tratamiento avanzado del cáncer.⁹⁴

2.3.5.7.6. El CC-5079

El CC-5079 pertenece a los análogos de 1,1-diariltenos de CA-4, que se llama isocombretastatinas A. CC-5079 es un inhibidor doble de la polimerización de tubulina y la actividad de fosfodiesterasa-4 (PDE4), además ha mostrado actividades antiangiogénicas y antitumorales. CC-5079 también puede detener el ciclo celular en G2 / M fase, aumentar la fosforilación de G2 / M, punto de control de proteínas, e inducir la apoptosis.⁹⁵

2.3.5.7.7. Nocodazol

Se ha demostrado que el nocodazol tiene actividad antimitótica y antitumoral. La acción de este agente es fácilmente reversible y relativamente rápida. Sin embargo, la eficacia terapéutica completa de este agente es limitada debido al desarrollo de diversos efectos secundarios en pacientes, incluyendo supresión de médula ósea, neutropenia, leucopenia y anemia.⁹⁶

2.3.5.7.8. 2-Metoxiestradiol (2-ME)

Este agente también se une al sitio de unión a la colchicina en la tubulina, induce la detención del ciclo celular G2 / M y la apoptosis y reduce los niveles del factor inducible por hipoxia (HIF) -1 α .

Los estudios también mostraron que ENMD-1198 fué muy potente en la inhibición de la proliferación de células endoteliales, motilidad, migración y morfogénesis. Además, la ENMD-1198 indujo una disminución significativa en la expresión de la proteína del receptor del factor endotelial vascular (VEGFR) - 2 en las células endoteliales. Además, ENMD-1198 es capaz de romper las estructuras vasculares muy rápidamente.⁹⁷

2.3.5.7.9. 2-Metoxiestradiol y sus derivados

El 2-metoxiestradiol es el principal metabolito de la hormona β -estradiol y es un inhibidor competitivo débil de la colchicina que se une a la tubulina. 2-ME y su análogo ENMD-1198 están bajo estudios clínicos como agentes anticancerígenos prometedores con doble actividad contra la proliferación de células cancerígenas y la angiogénesis. Cushman y sus colegas se han centrado en cambiar los sustituyentes en las posiciones 2 y 6 de 2-metoxiestradiol para aumentar la citotoxicidad y la inhibición de la polimerización de tubulina, y sus esfuerzos han producido 2-etoxiestradiol.⁹⁹

2.3.5.8. Derivados de colchicina

2.3.5.8.1. Inhibidores de tubulina con afinidad al sitio de unión de la colchicina

Como se ha mencionado con anterioridad, se encuentran en curso investigaciones que buscan el desarrollo de moléculas con afinidad a tubulina como potenciales fármacos antitumorales. Tal es el caso de la línea de investigación desarrollada por Ahmed Kamal y colaboradores; quienes han propuesto la síntesis de derivados dimétricos de 2-anilinopiridinas, cuya actividad ha sido explicada mediante la unión de estos compuestos al sitio de unión de la colchicina presente en la tubulina. La estructura de las moléculas que han sintetizado se presenta en la **Figura 27**, tal estructura consta de un par de anillos de benceno sustituidos unidos a piridina, éstas últimas unidas mediante un enlace de tipo amida.⁹⁸

Estos análogos han buscado ejercer un efecto similar al de la colchicina, evitando la alta toxicidad. Las moléculas sintetizadas por Ahmed Kamal y colaboradores han experimentado actividad inhibitoria en líneas celulares cancerígenas de pulmón, seno y próstata. Adicionalmente, pruebas biológicas como el ensayo de cartometría de flujo han demostrado el arresto entre la fase G2 y la mitosis del ciclo celular. Ensayos de tipo competitividad expusieron mayor afinidad

de las moléculas sintetizadas con respecto a ABT-751 (E7010) – molécula cuya afinidad al sitio de acción de la colchicina ha sido previamente reportado-.⁹⁹

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
4a	H	F	H	F
4b	H	OCH ₃	H	F
4c	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	F
4d	CF ₃	H	CF ₃	F
4e	H	F	H	OCH ₃
4f	H	OCH ₃	H	OCH ₃
4g	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃
4h	CF ₃	H	CF ₃	OCH ₃
4i	H	F	H	Cl
4j	H	OCH ₃	H	Cl
4k	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	Cl
4l	CF ₃	H	CF ₃	Cl
4m	H	F	H	H
4n	H	OCH ₃	H	H
4o	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H
4p	CF ₃	H	CF ₃	H

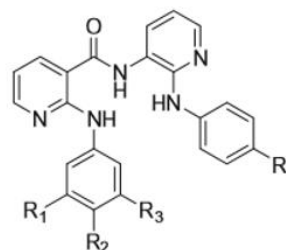


Figura 27.- Estructura química de las moléculas sintetizadas por Ahmed Kamal y colaboradores.

3. DISCUSIÓN

En la presente monografía, se describen los avances de la quimioterapia desde su surgimiento tras las investigaciones de las mostazas nitrogenadas, analizando los inicios de la quimioterapia moderna, hasta el desarrollo de la target therapy o terapia dirigida. Esta última ha significado una gran esperanza en el diseño de fármacos de manera general y no sólo en el diseño de fármacos anticancerígenos.

Como se mencionó en el texto, la terapia dirigida ha sido posible gracias a los avances en el conocimiento de la patología del cáncer, pues al saber qué macromolécula o enzima se altera, se busca modular su función, es entonces cuando se identifica una diana biológica y se buscan varias maneras de "atacar" a dicha diana o sitio blanco. Es preciso mencionar que también la comprensión de los mecanismos de acción de los fármacos, representa un gran avance en el desarrollo de fármacos.

El diseño de fármacos, actualmente se centra en la Target Therapy, tenemos por ejemplo fármacos que interactúan con DNA de diferentes formas, fármacos que inhiben que emplean anticuerpos monoclonales que atacan sitios específicos disminuyendo considerablemente la toxicidad sistémica, o fármacos que inhiben a la tubulina ocupando alguno de sus diferentes sitios de acción farmacológica.

En el caso de la tubulina, una importante diana biológica en el diseño de fármacos con propiedades anticancerígenas, se observa que las moléculas con afinidad a dicha proteína son capaces de ejercer efectos diferentes en la estabilidad de los microtúbulos de acuerdo al sitio de acción al que se une el ligando. Lo que explica la clasificación de inhibidores de tubulina en fármacos estabilizantes y desestabilizantes de microtúbulos. Sin embargo, ambos tipos de fármacos, a concentraciones terapéuticas por diferentes mecanismos, logran detener la progresión del ciclo celular entre la etapa G2 y la mitosis, sometiendo la detención o reintroducción en la interface y en su mayoría muerte celular programada.⁴⁸

Se ha observado que los inhibidores de tubulina, son altamente exitosos en pacientes con cáncer metastásico, donde tras la administración se logra reducir el número de células cancerígenas sobre todo en sitios difíciles de acceder para retirar tumores quirúrgicamente.

Uno de los problemas a los que se enfrenta el diseño de fármacos es la tolerancia, en este caso producto de la mutación o las modificaciones post-traduccionales de la tubulina. Por ello los análogos novedosos brindan una gran esperanza pues, en su mayoría, han presentado inhibición de líneas celulares tumorales resistentes a los taxanos o alcaloides de la vinca clásicos.

Otro importante problema es la alta toxicidad sistémica, como en el caso de la colchicina la cual por este mismo motivo no se usa en la terapéutica del cáncer pero ha mostrado usos terapéuticos en otros padecimientos. Además ha servido como molécula líder para el desarrollo de análogos estructurales con efectos farmacológicos de disruptores vasculares, de manera que a través de un mecanismo farmacológico diferente a la inducción a apoptosis ejercen un efecto anticancerígeno.

Otro aspecto importante es que aunque los inhibidores de tubulina se habían estudiado por años solo como estabilizantes o desestabilizantes de microtúbulos con propiedades anticancerígenas, el efecto que ejercen en los microtúbulos los ha posicionado como una posible terapia en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como es el caso de la Pelorosida A que se estudia aun de manera preclínica para tratar el Alzheimer.

Así que la tubulina es una diana biológica con potenciales efectos terapéuticos a través mediante diversos mecanismos de acción, pues su inhibición puede tener, como se ha mencionado ampliamente, efectos estabilizantes o desestabilizantes de microtúbulos con potencial anticancerígeno o como tratamiento de enfermedades degenerativas, puede tener efectos disruptores vasculares, y aunque no se discute en este trabajo, también hay reportes de su inhibición con propósitos antiparasitarios.

Los primeros inhibidores de tubulina descubiertos corresponden a productos naturales, como se menciona en las primeras páginas de este trabajo, la investigación en productos naturales ha proporcionado compuestos con importantes actividades biológicas. Algunos de ellos actualmente se obtienen por síntesis total o semi-síntesis.

Por ejemplo, el taxol se extrajo de la corteza del árbol *Taxus brevifolia* y ahora se obtiene por semisíntesis a partir de precursores obtenidos de arbustos cultivados. La actividad antitumoral del taxol se asocia principalmente a la cadena lateral del anillo A (Véase **Figura 28**) y el anillo oxetano, la actividad se mantiene por el grupo acil amida presente en el carbono 3 de la cadena unida al ciclo de anillos en el átomo 13. Por último, se cree que la actividad se ve potenciada por el grupo hidroxilo en el carbono 2. Estas características estructurales, ocasionan que las moléculas de los taxanos interactúen con la tubulina en el sitio del taxol ocasionando polimerización de dicha proteína generando la citotoxicidad y la estabilización de microtúbulos.¹⁰⁰

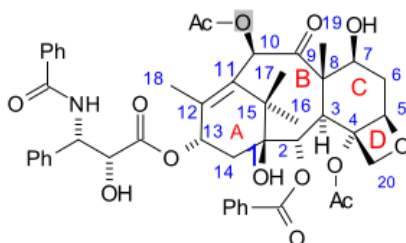


Figura 28.- Estructura numerada de los anillos de taxol.

Este mismo mecanismo de estabilización de microtúbulos se observa en la Laulimalida y Pelorusida moléculas que se unen al sitio que lleva su nombre, diferente al sitio de taxanos también en la β -tubulina y usan sus respectivas estructuras nucleares de macrólidos para interactuar con un segundo dímero de tubulina a través de protofilamentos. Al mismo tiempo, estabilizan alostéricamente

el sitio M-loop del taxano que establece interacciones laterales en los microtúbulos.

60

La Laulimalida es un producto natural de origen marino que se obtuvo a partir de esponjas marinas, cuya síntesis total fue reportada en 25 pasos en el 2002 por científicos de la universidad de Stanford.¹⁰¹ Como se menciona en el texto también de dicha molécula se realizan análogos estructurales con la finalidad de mejorar sus actividades biológicas.

El segundo grupo de inhibidores de tubulina, los alcaloides de la vinca y la colchicina sabemos que ejercen comportamientos distintos según las concentraciones del fármaco, a muy bajas suprimen la dinámica de los microtúbulos y a concentraciones mayores reducen la masa de polímero de los microtúbulos.

La vinblastina uno de los alcaloides de la vinca más estudiados, puede aislarse del bígaro de Madagascar (*Catharanthus roseus*),. La extracción es costosa y los rendimientos de vinblastina y sus precursores son bajos, aunque se han desarrollado procedimientos para aislamiento rápido con rendimientos mejorados que evitan la autooxidación. La síntesis enantioselectiva ha sido de considerable interés en los últimos años, Actualmente la vinblastina se construye mediante una serie de reacciones de ciclación y acoplamiento que crean la estereoquímica requerida. El rendimiento global puede ser tan grande como 22%, lo que hace que este enfoque sintético más atractivo que la extracción de fuentes naturales, cuyo rendimiento global es de alrededor del 10%.¹⁰² La vinblastina también ha inspirado modificaciones estructurales en busca de análogos más efectivos.

La colchicina, como otros inhibidores de tubulina, corresponde a un producto natural. Esta sustancia se extrajo de la planta *Colchicum autumnal*. La colchicina actúa como desestabilizante de microtúbulos mediante la unión a la β -tubulina y da lugar a un dímero de tubulina curvo, mismo que evita que la tubulina evita que adopte una estructura recta debido a interacciones de tipo estérico entre colchicina y α -tubulina, que inhibe el montaje de microtúbulos. Esta sustancia como se mencionó con anterioridad no ha sido usada en la clínica para tratar el cáncer, pero

su estructura ha sido amplemente modificada para la generación de análogos estructurales, conservando el sistema de varios anillos unidos entre sí. Los análogos de colchicina han mostrado actividad como disruptores vasculares y como desestabilizantes de microtúbulos.⁹¹ La estructura conformada por la unión continua de anillos aromáticos es característica de los desestabilizantes de microtúbulos, pues se encuentra también en varios de los alcaloides de la vinca estudiados.

4. CONCLUSIONES

Tras una amplia revisión bibliográfica, y la identificación de la información, se concluye que los inhibidores de tubulina, representa una útil e importante herramienta en la terapéutica contra el cáncer. Tanto en fármacos usados ampliamente como el taxol como en muchos que se encuentran aun en estudios clínicos y preclínicos.

La tubulina, representa una diana biológica muy importante en diseño de terapias anticancerígenas, ya que altera la dinámica de los microtúbulos, conduciendo a la célula a la muerte celular programada, apoptosis. El diseño de moléculas con afinidad a alguno de los sitios de la tubulina corresponde a un importante tema dentro del desarrollo de nuevos fármacos. Sobre todo para mejorar la eficacia y evitar la tolerancia; por ejemplo, en el caso de que algunos derivados novedosos de taxanos o viblastinas, mostraban actividad inhibitoria contra líneas celulares que mostraban tolerancia a los fármacos predecesores.

En los fármacos de unión a tubulina, también se han observado otros potenciales efectos terapéuticos, como en el caso de la pelorosida A con potencial aplicación en la enfermedad de Alzheimer, o como el caso de las moléculas de unión al sitio de la colchicina que han mostrado efectos disruptores vasculares que permiten también el tratamiento de tumores sólidos.

Los fármacos de unión a tubulina representan un grupo importante dentro de los fármacos empleados en la terapéutica del cáncer, ya sea que se empleen como terapia única o en forma sinérgica con otros fármacos para obtener tratamientos más eficaces, por lo que el diseño de fármacos afines a tubulina es un importante área de investigación.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Strachan, T., & Read, A. P. (2011). Human Molecular Genetics 4. Garland Science/Taylor & Francis Group.
2. Blay, J. (2014). Oncogènes, gènes suppresseurs de tumeurs, et aneuploïdie : la somme de toutes les nuances. *Bulletin Du Cancer*, 101(4), 340. <http://doi.org/10.1684/bdc.2014.1913>
3. Hanahan, D. and Weinberg, A. R. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 2011, 144 (5), 646 – 674.
4. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and prevalence Worldwide in 2012. http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx (Visitado 20 AGO 16)
5. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Causas de Defunción. Defunciones generales totales por principales causas de mortalidad, 2014. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/sisept/Default.aspx?t=mdemo107&s=est&c=23587>. (Visitado 20 AGO 16)
6. Rang, H. P., Ritter, J. M., Flower, R. J., & Henderson, G. (2014). Rang & Dale's Pharmacology. (8th ed.). Elsevier Health Sciences UK.
7. Brunton, L., Blumenthal, D., Buxton, I., & Parker, K. (2011). *Goodman and Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics* (12th ed.). McGraw-Hill Education.
8. NCI Dictionary of Cancer Terms. (n.d.). Retrieved November 4, 2016, from <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms?crid=44295>
9. Nardone, L., Diletto, B., De Santis, M. C., D'Agostino, G. R., Belli, P., Bufi, E., ... Valentini, V. (2014). Primary systemic treatment and concomitant low dose radiotherapy for breast cancer: final results of a prospective phase II study. *Breast (Edinburgh, Scotland)*, 23(5), 597–602.
10. Corrie, P. G. (2011). Cytotoxic chemotherapy: Clinical aspects. *Medicine*, 39(12), 717–722.
11. Chemotherapy. (2015). Retrieved November 5, 2016, from <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/chemotherapy#1>
12. Chabner, B. a, & Roberts, T. G. (2005). Timeline: Chemotherapy and the war on cancer. *Nature reviews. Cancer*, 5(1), 65–72.
13. Visentin, M., Zhao, R., & Goldman, I. D. (2012). The Antifolates. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 26(3), 629–648.
14. Kinghorn, A. D., Chin, Y.-W., & Swanson, S. M. (2009). Discovery of natural product anticancer agents from biodiverse organisms. *Current opinion in drug discovery & development*, v. 12, n. 2, p. 189–196, 2009. f natural product anticancer agents from biodi. *Current Opinion in Drug Discovery & Development*, 12(2), 189–196.
15. Nussbaumer, S., Bonnabry, P., Veuthey, J. L., & Fleury-Souverain, S. (2011). Analysis of anticancer drugs: A review. *Talanta*, 85(5), 2265–2289.

16. Lind, M. J. (2011). Principles of cytotoxic chemotherapy. *Medicine*, 39(12), 711–716.
17. Puyo, S., Montaudon, D., & Pourquier, P. (2014). From old alkylating agents to new minor groove binders. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 89(1), 43–61.
18. Johnson, C. A., Hudson, G. A., Hardebeck, L. K. E., Jolley, E. A., Ren, Y., Lewis, M., & Znosko, B. M. (2015). Effect of intercalator substituent and nucleotide sequence on the stability of DNA- and RNA-naphthalimide complexes. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 23(13), 3586–3591.
19. Sheng, C., Miao, Z., & Zhang, W. (2016). Chapter 1 - Topoisomerase I Inhibitors Derived from Natural Products: Structure–Activity Relationships and Antitumor Potency. In Atta-ur-Rahman (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 47, pp. 1–28). Elsevier.
20. Johnstone, T. C., Park, G. Y., & Lippard, S. J. (2014). Understanding and improving platinum anticancer drugs - Phenanthriplatin. *Anticancer Research*, 34(1), 471–476.
21. Caley, A. (2012). The principles of cancer treatment by chemotherapy. *Surgery*, 30(4), 186–190.
22. Abdulkareem, I. H., & Zurmi, I. B. (2012). Review of hormonal treatment of breast cancer. *Nigerian Journal of Clinical Practice*, 15(1), 9–14.
23. Graham, J., Pitz, M., Gordon, V., Grenier, D., Amir, E., & Niraula, S. (2016). Clinical predictors of benefit from fulvestrant in advanced breast cancer: A Meta-analysis of randomized controlled trials. *Cancer Treatment Reviews*, 45, 1–6.
24. Farhadfar, N., & Litzow, M. R. (2016). New monoclonal antibodies for the treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia Research*, 49, 13–21.
25. Cadoo, K. A., Morris, P. G., Cowell, E. P., Patil, S., Hudis, C. A., & McArthur, H. L. (2016). Adjuvant Chemotherapy and Trastuzumab Is Safe and Effective in Older Women With Small, Node-Negative, HER2-Positive Early-Stage Breast Cancer. *Clinical Breast Cancer*,
26. Petrillo, M., Amadio, G., Salutari, V., Paris, I., Di Stefano, M. G., Ferandina, G., ... Fagotti, A. (2016). Impact of bevacizumab containing first line chemotherapy on recurrent disease in epithelial ovarian cancer: A case-control study. *Gynecologic Oncology*.
27. Kyriakou, F., Kountourakis, P., & Papamichael, D. (2011). Targeted agents: Review of toxicity in the elderly metastatic colorectal cancer patients. *Targeted Oncology*, 6(4), 245–251.
28. Ang, Y. L. E., Yong, W. P., & Tan, P. (2016). Translating Gastric Cancer Genomics into Targeted Therapies. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 100, 141–146.
29. Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., ... Walter, P. (2013). *Essential Cell Biology*, Fourth Edition. Taylor & Francis Group.
30. Suryadinata, R., Sadowski, M., & Sarcevic, B. (2010). Control of cell cycle progression by phosphorylation of cyclin-dependent kinase (CDK) substrates. *Bioscience Reports*, 30(4), 243–55.

31. Santo, L., Siu, K. T., & Raje, N. (2015). Targeting Cyclin-Dependent Kinases and Cell Cycle Progression in Human Cancers. *Seminars in Oncology*, 42(6), 788–800.
32. Poehlmann, A., & Roessner, A. (2010). Importance of DNA damage checkpoints in the pathogenesis of human cancers. *Pathology Research and Practice*, 206(9), 591–601.
33. Swanson, R. A., & Castro-Obregón, S. (2014). Cell Death. In M. J. Aminoff & R. B. Daroff (Eds.), *Encyclopedia of the Neurological Sciences (Second Edition)* (Second Edi, pp. 634–636). Oxford: Academic Press.
34. Clementi, F., & Fumagalli, G. (2015). *General and Molecular Pharmacology: Principles of Drug Action*. Wiley.
35. Jordan, M. A., & Kamath, K. (2007). How Do Microtubule-Targeted Drugs Work ? An Overview. *Current Cancer Drug Targets*, 7(8), 730–742.
36. Dumontet, C., & Jordan, M. A. (2010). Microtubule-binding agents: a dynamic field of cancer therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery*, 9(10), 790–803.
37. Jordan, M. A., & Wilson, L. (2004). MICROTUBULES AS A TARGET FOR. *Nature Reviews*, 4(April), 253–265.
38. Ferreira, J. G., Pereira, A. L., & Maiato, H. (2014). Microtubule Plus-End Tracking Proteins and Their Roles in Cell Division. *International Review of Cell and Molecular Biology* (1st ed., Vol. 309). Elsevier Inc.
39. Singh, P., Rathinasamy, K., Mohan, R., & Panda, D. (2008). Microtubule assembly dynamics: An attractive target for anticancer drugs. *IUBMB Life*, 60(6), 368–375.
40. Schmidt, M., & Bastians, H. (2007). Mitotic drug targets and the development of novel anti-mitotic anticancer drugs, 10, 162–181.
41. Chakraborti, S., Natarajan, K., Curiel, J., Janke, C., & Liu, J. (2016). The Emerging Role of the Tubulin Code: From the Tubulin Molecule to Neuronal Function and Disease, 00.
42. Barisic, M., & Maiato, H. (2016). The Tubulin Code: A Navigation System for Chromosomes during Mitosis. *Trends in Cell Biology*, xx, 1–10.
43. Liu, Y., Chen, H., Lee, H., & Liou, J. (2014). Tubulin inhibitors : a patent review. *Expert Opinion*, 24, 69–88.
44. Field, J. J., Kanakkanthara, A., & Miller, J. H. (2015). Microtubule-targeting agents are clinically successful due to both mitotic and interphase impairment of microtubule function. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 22(18), 5050–5059.
45. Lu, Y., Chen, J., Xiao, M., Li, W., & Miller, D. D. (2012). An overview of tubulin inhibitors that interact with the colchicine binding site. *Pharmaceutical Research*, 29(11), 2943–2971.
46. Kavallaris, M. (2010). Microtubules and resistance to tubulin-binding agents. *Nature Reviews. Cancer*, 10(3), 194–204
47. Gonzales., L. C. (2015). Síntesis y evaluación in silico de nuevos carbamatos bencimidazolicos como inhibidores de la polimerización de la B-tubulina. UNAM. Tesis para obtener el grado de QFB.
48. Zhao, Y., Mu, X., & Du, G. (2016). Microtubule-stabilizing agents: New drug discovery and cancer therapy. *Pharmacology & Therapeutics*, 162, 134–143.
49. Jordan, M. A., Ojima, I., Rosas, F., Distefano, M., Wilson, L., Scambia, G., ... Cuore, C. S. (2002). Effects of Novel Taxanes SB-T-1213 and IDN5109 on

- Tubulin Polymerization and Mitosis University of California Santa Barbara State University of New York at Stony Brook, 9(01), 93–101.
50. Nogales, E., Wolf, S. G., Khan, I. A., Ludueña, R. F., & Downing, K. H. (1995). Structure of tubulin at 6.5 Å and location of the taxol-binding site. *Nature*, 375(1), 424–427.
 51. Biganzoli, L., Aapro, M., Loibl, S., Wildiers, H., & Brain, E. (2016). Taxanes in the treatment of breast cancer: Have we better defined their role in older patients? A position paper from a SIOG Task Force. *Cancer Treatment Reviews*, 43, 19–26.
 52. Sachdev, J. C., & Jahanzeb, M. (2016). Use of Cytotoxic Chemotherapy in Metastatic Breast Cancer: Putting Taxanes in Perspective. *Clinical Breast Cancer*, 16(2), 73–81.
 53. Seitz, J. D., Vineberg, J. G., Wei, L., Khan, J. F., Lichtenthal, B., Lin, C. F., & Ojima, I. (2015). Design, synthesis and application of fluorine-labeled taxoids as ¹⁹F NMR probes for the metabolic stability assessment of tumor-targeted drug delivery systems. *Journal of Fluorine Chemistry*, 171, 148–161.
 54. Edelman, M. J., & Shvartsbeyn, M. (2012). Epothilones in development for non-small-cell lung cancer: Novel anti-tubulin agents with the potential to overcome taxane resistance. *Clinical Lung Cancer*, 13(3), 171–180.
 55. Rogalska, A., Marczak, A., Gajek, A., Szwed, M., Śliwińska, A., Drzewoski, J., & Józwiak, Z. (2013). Induction of apoptosis in human ovarian cancer cells by new anticancer compounds, epothilone A and B. *Toxicology in Vitro*, 27(1), 239–249.
 56. NATIONAL CANCER INSTITUTE. (2011). FDA Approval for Ixabepilone. Retrieved November 17, 2016, from <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/fda-ixabepilone>
 57. NATIONAL CANCER INSTITUTE. (2011). FDA Approval for Ixabepilone. Retrieved November 17, 2016, from <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/fda-ixabepilone>.
 58. ClinicalTrials.gov. (2013). Phase II Trial Of ZK-EPO (ZK 219477) (Sagopilone) In Metastatic Melanoma. Retrieved November 17, 2016, from <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00598507?term=SAGOPILONE&rank=1>
 59. Sang, F., Feng, P., Chen, J., Ding, Y., Duan, X., Zhai, J., ... Chen, Y. (2013). Epothilone D and its 9-Methyl analogues: Combinatorial syntheses, conformation, and biological activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 68, 321–332.
 60. Prota, A. E., Bargsten, K., Northcote, P. T., Marsh, M., Altmann, K., Miller, J. H., ... Steinmetz, M. O. (2014). Structural Basis of Microtubule Stabilization by Laulimalide and Peloruside A ** Angewandte. *Angew. Chemie - Int. Ed.*, 53(310030), 1621–1625.
 61. Field, J. J., Kanakkanthara, A., & Miller, J. H. (2015). Microtubule-targeting agents are clinically successful due to both mitotic and interphase impairment of microtubule function. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 22(18), 5050–5059.
 62. Kanakkanthara, A. (2016). Peloruside A: a lead non-taxoid-site microtubule-stabilizing agent with potential activity against cancer, neurodegeneration, and autoimmune disease. *Natural Product Reports*, 33(4), 549–561.
 63. Brunden, K. R., Trojanowski, J. Q., Smith, A. B., Lee, V. M.-Y., & Ballatore, C. (2014). Microtubule-Stabilizing Agents as Potential Therapeutics for

- Neurodegenerative Disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22(18), 5040–5049.
64. Bates, D., & Eastman, A. (2016). Microtubule destabilising agents: far more than just antimetabolic anticancer drugs. *British Journal of Clinical Pharmacology*, n/a–n/a.
65. Avendaño, C., & Menéndez, J. C. (2015). Chapter 9 - Anticancer Drugs Targeting Tubulin and Microtubules. In C. Avendaño & J. C. Menéndez (Eds.), *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs (Second Edition)* (Second Edition, pp. 359–390). Boston: Elsevier.
66. <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>. (2012). Study of Oral Vinorelbine and Erlotinib in Non-Small Cell Lung Cancer.
67. Search of: Vinorelbine - List Results - ClinicalTrials.gov. (2014). Retrieved from <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=+Vinorelbine+&Search=Search>.
68. Blasinska-Morawiec, M., Tubiana-Mathieu, N., Fougeray, R., Pinel, M. C., & Bougnoux, P. (2013). Phase II study of intravenous vinflunine after failure of first-line vinorelbine based regimen for advanced breast cancer. *Breast*, 22(1), 58–63.
69. Schutz, F. A., Bellmunt, J., Rosenberg, J. E., & Choueiri, T. K. (2011). Vinflunine: drug safety evaluation of this novel synthetic vinca alkaloid. *Expert Opinion on Drug Safety*, 10, 645–653.
70. Trials, C. (2016). Search of: vinflunine - List Results - ClinicalTrials.gov. Retrieved from <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=vinflunine&Search=Search>
71. Makam N, S., Chidambara Murthy, K. N., Sultanpur, C. M., & Rao, R. M. (2014). Natural molecules as tumour inhibitors: Promises and prospects. *Journal of Herbal Medicine*, 4(4), 175–187.
72. Gianolio, D. A., Rouleau, C., Bauta, W. E., Lovett, D., Cantrell, W. R., Recio, A., Teicher, B. A. (2012). Targeting HER2-positive cancer with dolastatin 15 derivatives conjugated to trastuzumab, novel antibody-drug conjugates. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 70(3), 439–449.
73. Beesoo, R., Neergheen-Bhujun, V., Bhagooli, R., & Bahorun, T. (2014). Apoptosis inducing lead compounds isolated from marine organisms of potential relevance in cancer treatment. *Mutation Research*, 768, 84–97.
74. Mayer, A. M. S., Glaser, K. B., Cuevas, C., Jacobs, R. S., Kem, W., Little, R. D., ... Shuster, D. E. (2010). The odyssey of marine pharmaceuticals: a current pipeline perspective. *Trends in Pharmacological Sciences*, 31(6), 255–265.
75. Zheng, J., Deng, L., Chen, M., Xiao, X., Xiao, S., Guo, C., ... Chen, H. (2013). Elaboration of thorough simplified vinca alkaloids as antimetabolic agents based on pharmacophore similarity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 65, 158–167.
76. Ngo, Q. A., Roussi, F., Thoret, S., & Guéritte, F. (2012). New potent vinca alkaloids resulting from an unexpected isomerization. *Tetrahedron Letters*, 53(44), 5821–5823.
77. Leung, Y. Y., Yao Hui, L. L., & Kraus, V. B. (2015). Colchicine-Update on mechanisms of action and therapeutic uses. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 45(3), 341–350.

78. Bhattacharyya, B., Panda, D., Gupta, S., & Banerjee, M. (2008). Anti-mitotic activity of colchicine and the structural basis for its interaction with tubulin. *Medicinal Research Reviews*, 28(1), 155–183.
79. Massarotti, A., Coluccia, A., Silvestri, R., Sorba, G., & Brancale, A. (2012). The Tubulin Colchicine Domain: a Molecular Modeling Perspective. *ChemMedChem*, 7(1), 33–42.
80. Charpentier, M. S., Whipple, R. A., Vitolo, M. I., Boggs, A. E., Slovic, J., Thompson, K. N., ... Martin, S. S. (2014). Curcumin Targets Breast Cancer Stem-like Cells with Microtentacles That Persist in Mammospheres and Promote Reattachment. *Cancer Research*, 74(4), 1250–1260.
81. Ganguly, A., Yang, H., Zhang, H., Cabral, F., & Patel, K. D. (2013). Microtubule Dynamics Control Tail Retraction in Migrating Vascular Endothelial Cells. *Molecular Cancer Therapeutics*, 12(12), 2837–2846.
82. Khanna, D., Khanna, P. P., Fitzgerald, J. D., Singh, M. K., Bae, S., Neogi, T., ... Terkeltaub, R. (2012). 2012 American College of Rheumatology guidelines for management of gout. Part 2: Therapy and antiinflammatory prophylaxis of acute gouty arthritis. *Arthritis Care & Research*, 64(10), 1447–1461.
83. Wortmann, R. L., MacDonald, P. A., Hunt, B., & Jackson, R. L. (2016). Effect of Prophylaxis on Gout Flares After the Initiation of Urate-Lowering Therapy: Analysis of Data From Three Phase III Trials. *Clinical Therapeutics*, 32(14), 2386–2397.
84. Sun, A., Wang, Y.-P., Chia, J.-S., Liu, B.-Y., & Chiang, C.-P. (2009). Treatment with levamisole and colchicine can result in a significant reduction of IL-6, IL-8 or TNF- α level in patients with mucocutaneous type of Behcet's disease. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 38(5), 401–405.
85. Kallinich, T., Haffner, D., Niehues, T., Huss, K., Lainka, E., Neudorf, U., ... Ozen, S. (2007). Colchicine Use in Children and Adolescents With Familial Mediterranean Fever: Literature Review and Consensus Statement. *Pediatrics*, 119(2), e474–e483.
86. M, I., A, B., R, C., & et al. (2011). Colchicine for recurrent pericarditis (corp): A randomized trial. *Annals of Internal Medicine*, 155(7), 409–414.
87. Imazio, M., Belli, R., Brucato, A., Cemin, R., Ferrua, S., Beqaraj, F., ... Adler, Y. (2016). Efficacy and safety of colchicine for treatment of multiple recurrences of pericarditis (CORP-2): a multicentre, double-blind, placebo-controlled, randomised trial. *The Lancet*, 383(9936), 2232–2237.
88. Nidorf, S. M., Eikelboom, J. W., Budgeon, C. A., & Thompson, P. L. (2013). Low-Dose Colchicine for Secondary Prevention of Cardiovascular Disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 61(4), 404–410.
89. Liang, W., Ni, Y., & Chen, F. (2016). Tumor resistance to vascular disrupting agents: mechanisms, imaging, and solutions. *Oncotarget*, 7(13), 15444–15459.
90. Taylor, M., Billiot, F., Marty, V., Rouffiac, V., Cohen, P., Tournay, E., ... Farace, F. (2012). Reversing Resistance to Vascular-Disrupting Agents by Blocking Late Mobilization of Circulating Endothelial Progenitor Cells. *Cancer Discovery*, 2(5), 434–449.
91. Lu, Y., Chen, J., Xiao, M., Li, W., & Miller, D. D. (2012). An overview of tubulin inhibitors that interact with the colchicine binding site. *Pharmaceutical Research*, 29(11), 2943–2971. <http://doi.org/10.1007/s11095-012-0828-z>

92. III, J. W. L. (2007). Vascular disrupting agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15(2), 605–615.
93. Nathan, P., Zweifel, M., Padhani, A. R., Koh, D.-M., Ng, M., Collins, D. J., ... Judson, I. (2012). Phase I Trial of Combretastatin A4 Phosphate (CA4P) in Combination with Bevacizumab in Patients with Advanced Cancer. *Clinical Cancer Research*, 18(12), 3428–3439
94. ClinicalTrials.gov. (2014). AVE8062. Retrieved November 20, 2016, from <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=AVE8062>
95. Zhang, L. H., Wu, L., Raymon, H. K., Chen, R. S., Corral, L., Shirley, M. A., ... Payvandi, F. (2006). The synthetic compound CC-5079 is a potent inhibitor of tubulin polymerization and tumor necrosis factor production with antitumor activity. *Cancer Research*, 66(2), 951–959.
96. Attia, S. M. (2013). Molecular cytogenetic evaluation of the mechanism of genotoxic potential of amsacrine and nocodazole in mouse bone marrow cells. *Journal of Applied Toxicology*, 33(6), 426–433.
97. Matei, D., Schilder, J., Sutton, G., Perkins, S., Breen, T., Quon, C., & Sidor, C. (2016). Activity of 2-methoxyestradiol (Panzem®; NCD) in advanced, platinum-resistant ovarian cancer and primary peritoneal carcinomatosis: A Hoosier Oncology Group trial. *Gynecologic Oncology*, 115(1), 90–96.
98. Pasquier, E., Sinnappan, S., Munoz, M. A., & Kavallaris, M. (2010). ENMD-1198, a New Analogue of 2-Methoxyestradiol, Displays Both Antiangiogenic and Vascular-Disrupting Properties. *Molecular Cancer Therapeutics*, 9(5), 1408–1418.
99. Kamal, A., Hussaini, S. M. A., Nayak, V. L., Malik, M. S., Sucharitha, M. L., Basha, T., & Bagul, C. (2014). Bioorganic & Medicinal Chemistry Synthesis of 2-anilinopyridine dimers as microtubule targeting and apoptosis inducing agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22(24), 6755–6767.
100. Malik, S., Cusidó, R. M., Mirjalili, M. H., Moyano, E., Palazón, J., & Bonfill, M. (2011). Production of the anticancer drug taxol in *Taxus baccata* suspension cultures: A review. *Process Biochemistry*, 46(1), 23–34
101. Wender, P. A., Hegde, S. G., Hubbard, R. D., Zhang, L., & V, S. U. (2002). Total Synthesis of (–)-Laulimalide. *J. AM. CHEM. SOC*, 2(c), 4956–4957.
102. Yokoshima, S., Tokuyama, H., & Fukuyama, T. (2010). Total synthesis of (+)-vinblastine: Control of the stereochemistry at C18'. *The Chemical Record*, 10(2), 101–118. [http](http://)