

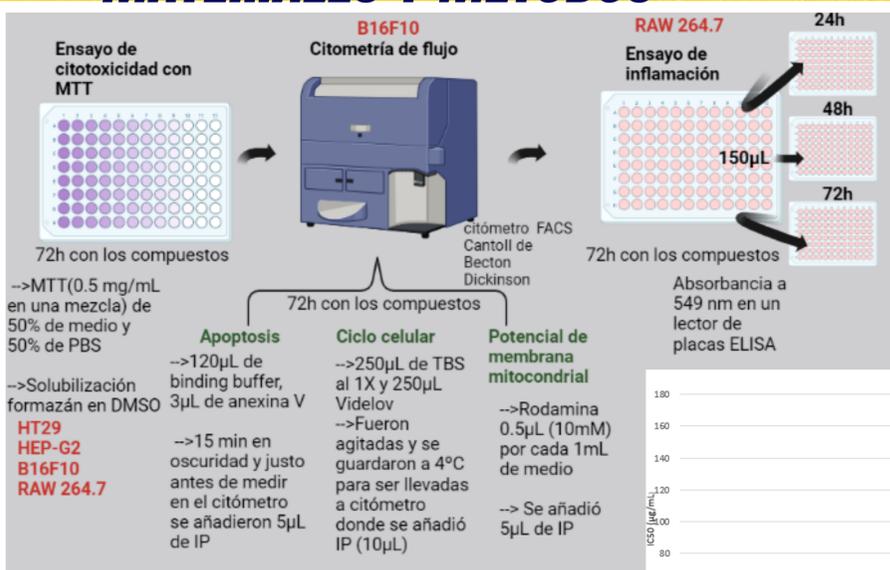
B.Prados-López¹, JF.Jorge-Yáñez,¹ M.Cano-Morenilla,¹ M.Sánchez-Soler,¹ JA.Lupiañez,¹
R.Chahboun,² FJ.Reyes-Zurita^{1,*}

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I. Departamento de Química orgánica.
¹Facultad de Ciencias.Grado en Bioquímica. Universidad de Granada.

RESUMEN

Ante la necesidad de encontrar nuevos antineoplásicos, los metabolitos secundarios producidos por las plantas son una alternativa para ello debido a su elevada bioactividad. Los procesos inflamatorios son capaces de promover el desarrollo del cáncer, por tanto, el encontrar biomoléculas con actividad dual (anticancerígena y antiinflamatoria) es crucial. Se ha realizado un estudio de la actividad antitumoral y antiinflamatoria de una serie de diterpenos (N1-N7) en células Hep-G2 (hepatoma), HT29 (carcinoma de colon) y B16-F10 (melanoma). Siendo los compuestos N1 (derivado kaureno) y N4 (derivado tropoleno), los que mostraron una mayor citotoxicidad en B16-F10. Por otra parte se ha utilizado como marcador del proceso inflamatorio el NO, siendo el N2 el compuesto que produjo una mayor reducción en Raw 264.7 (macrófago).

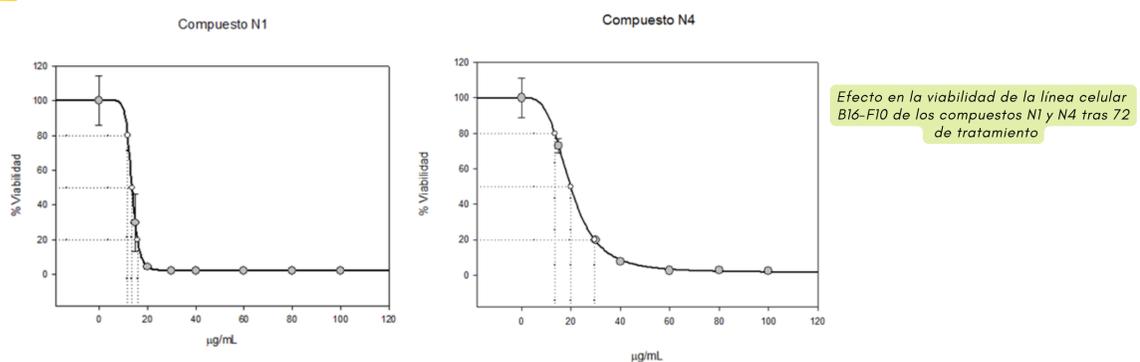
MATERIALES Y MÉTODOS



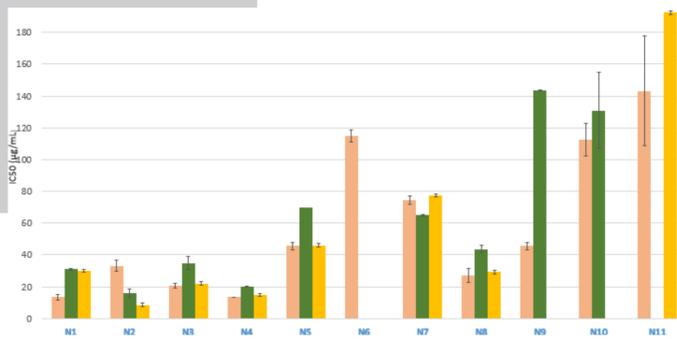
INTRODUCCIÓN

Hay un creciente número de casos de enfermos por cáncer al año, siendo necesario encontrar nuevos compuestos bioactivos con capacidad anticancerígena [1] [3]. Las plantas son una fuente de metabolitos secundarios con este poder, entre los cuales se encuentran los diterpenos kaurenos y tropolenos [2]. Su acción anticancerígena puede transcurrir por inducción apoptosis a través de la vía intrínseca (mitocondrial) o de la vía extrínseca (receptores de membrana). Por otro lado, a capacidad antiinflamatoria de estos compuestos puede venir dada por una inhibición de la expresión de citoquinas proinflamatorias como TNFα, IL-1β o IL-6, y de COX-2 o iNOS [4].

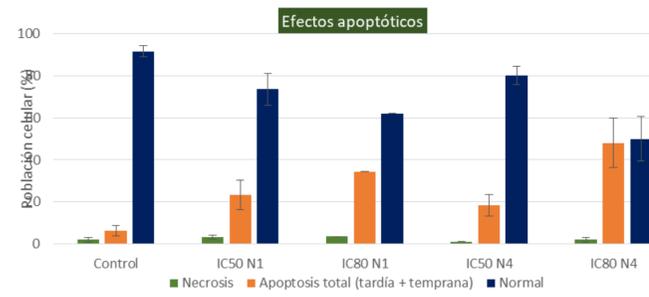
RESULTADOS



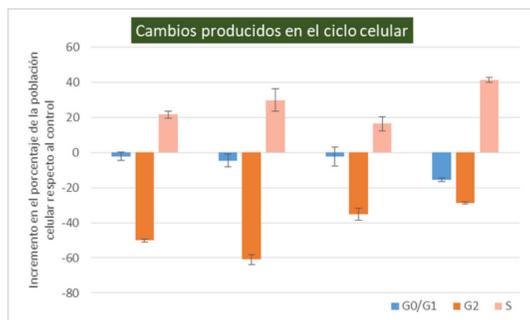
Efecto en la viabilidad de la línea celular B16-F10 de los compuestos N1 y N4 tras 72 de tratamiento



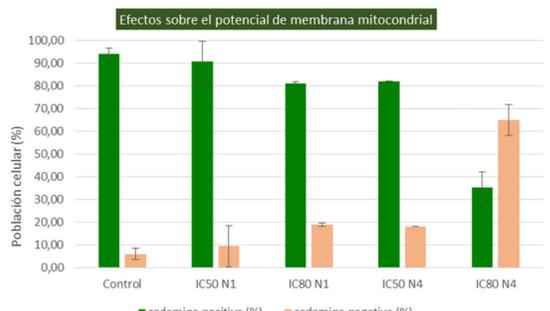
Los compuestos objetos de estudio (diterpenos N1 y N4) destacaron por su citotoxicidad en línea de melanoma murino B16-F10, con concentraciones de IC50 de 13,34±1,66 y 13,33±0,82 µg/mL respectivamente.



Se observó que la población celular tras 72h de tratamiento sufrió apoptosis, con valores en torno a un 23,3% para N1 y un 18,5% para N4, a las concentraciones de IC50 y con valores de un 34,4% para N1 y de un 48% para N4, cuando se expusieron a las concentraciones de IC80. Se observa por tanto una inducción de la apoptosis dependiente de la cantidad de producto empleada.



En cuanto al ciclo celular se observó arresto en fase S, con una reducción de células en las fases G0/G1 y G2/M. El incremento en la población celular en fase S en respuesta al compuesto N1 fue de un 21,50% a la concentración de IC50 y de un 29,77% a la concentración de IC80. Por otro lado N4 produjo un incremento de 16,31% a la concentración de IC50 y de un 41,31% a la concentración de IC80.



Respecto al potencial de membrana mitocondrial, el tratamiento durante 72h con el producto N1 redujo las células rodamina positivas en un 3,64% a IC50 y en un 13,81% a IC80 con respecto al control de células sin tratar, mientras que N4 redujo un 12,85% y un 62,65% a IC50 e IC80 respectivamente. Indicando la posible activación de la ruta extrínseca de inducción de apoptosis.

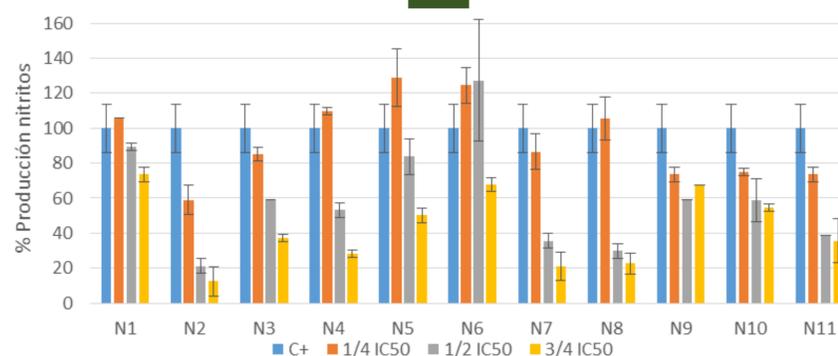
DISCUSIÓN

Ambos compuestos mostraron inducción de la apoptosis acompañada de un arresto del ciclo celular en fase S, sin reducción en el potencial de membrana mitocondrial, indicando que ambos inducen apoptosis a través de activación de la vía extrínseca, sin embargo en el caso del derivado kaureno (N4) esta inducción vino acompañada por la activación secundaria de la vía intrínseca. Todos los compuestos mostraron una clara actividad antiinflamatoria. Las bioactividades de estos compuestos pueden estar basadas en la formación de una agrupación tropolónica en medio ácido en el caso de N4 y por la presencia de un grupo cetónico en el caso de N1.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Prados López, Belén. Trabajo fin de grado. Aproximación a las bioactividades anti-inflamatorias y anticancerígenas de derivados diterpenos kaurenos y tropolenos aislados de *Distichoselinum tenuifolium* y *Salvia Sclarea*. Granada. Universidad de Granada. Grado en Bioquímica. 2022
- [2] Chahboun, R., Botubol-Ares, J. M., Durán-Peña, M. J., Jiménez, F., Alvarez-Manzaneda, R., & Alvarez-Manzaneda, E. (2021). Deconjugative α-Alkylation of Cyclohexenecarboxaldehydes: An Access to Diverse Terpenoids. *The Journal of organic chemistry*, 86(13), 8742-8754. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c00560>
- [3] Jannus, F., Medina-O'Donnell, M., Neubrand, V. E., Marín, M., Saez-Lara, M. J., Sepulveda, M. R., Rufino-Palomares, E. E., Martínez, A., Lupiañez, J. A., Parra, A., Rivas, F., & Reyes-Zurita, F. J. (2021). Efficient In Vitro and In Vivo Anti-Inflammatory Activity of a Diamine-PEGylated Oleanolic Acid Derivative. *International journal of molecular sciences*, 22(15), 8158. <https://doi.org/10.3390/ijms22158158>
- [4] Monkkonen, T., & Debnath, J. (2018). Inflammatory signaling cascades and autophagy in cancer. *Autophagy*, 14(2), 190-198. <https://doi.org/10.1080/15548627.2017.1345412>

48h



N2 y N7 redujeron de forma significativa la producción de NO en un 87,62% y un 18,88% respectivamente, en células RAW264.7 activadas con LPS.

CONCLUSIONES

Se ha demostrado el poder anticancerígeno y antiinflamatorio de los compuestos diterpenos bioactivos aislados de plantas como N1, aislado de *Distichoselinum tenuifolium* y N4 aislado de *Salvia sclarea*. Siendo una posible alternativa a los terapéuticos utilizados en la actualidad, lo que podría tener un gran impacto en el tratamiento de cánceres como el de melanoma, pudiendo llegar a tener una posible aplicación farmacológica.



pradoslopezbelen@gmail.com
and ferjes@ugr.es