

COLABORACIONES EN QUÍMICA

DISEÑO DE COMPUESTOS ANTICÁNCER MULTIDIANA

EL CÁNCER Y LAS CÉLULAS CANCEROSAS

El cáncer es la segunda causa de muerte en los países desarrollados. Las estadísticas apuntan a que, en los próximos 20 años, el número de casos mundiales de cáncer aumentará más de un 50% y las muertes provocadas por esta enfermedad se incrementarán más del 60% respecto a las cifras actuales [1].

El cáncer aparece cuando un grupo de células de un determinado tejido comienzan a dividirse de forma descontrolada, adquieren la capacidad para migrar y se diseminan por todo el organismo [2]. Desde el punto de vista médico, el cáncer engloba más de un centenar de enfermedades distintas, puesto que los síntomas y problemas que provoca en el enfermo son muy diferentes según el órgano en el que se haya producido el tumor [3]. Sin embargo, se ha comprobado que las células cancerosas presentan unas características que son comunes a todas ellas con independencia del tejido en el que se encuentren. Estas características fueron descritas por Hanahan y Weinberg en el año 2011 [4] (Figura 1) y son diez:

1. Proliferación ilimitada: es la característica más asociada a las células cancerosas. Los tejidos normales controlan cuidadosamente la producción y liberación de señales promotoras del crecimiento que incluyen aquellas que controlan el ritmo del ciclo división celular, asegurando así el mantenimiento de la arquitectura y la función del tejido sano. Por otro lado, las células cancerosas sobreproducen estas señales lo que conduce a una proliferación y crecimiento celular descontrolado que conlleva la invasión de otros tejidos y órganos.
2. Evasión del sistema inmunológico: las células cancerosas producen niveles anormalmente elevados de una serie de proteínas de membrana, como PD-L1 y CD47 que les permite detener el ataque del

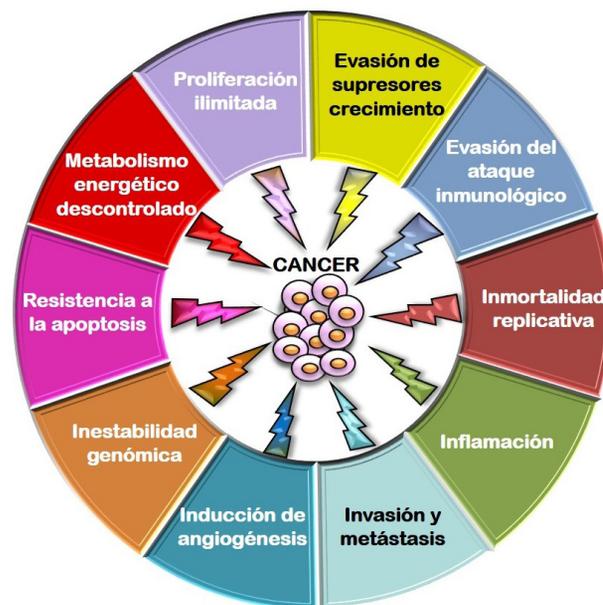


Figura 1. Características comunes a todas las células cancerosas.

sistema inmune, evitando así la erradicación del tumor [5].

3. Evasión de la apoptosis o muerte celular programada: la muerte celular programada constituye un mecanismo regulador del crecimiento y renovación de los tejidos. Las células cancerosas adquieren mutaciones por las que escapan al control del ciclo celular y adquieren resistencia al control homeostático natural.
4. Inducción de la angiogénesis, es decir, son capaces de promover la creación de nuevos vasos sanguíneos. Esto sucede cuando el tumor sólido alcanza 1 mm³ de volumen debido a que las células que se encuentran en su interior, no se encuentran bien irrigadas y sienten déficit de oxígeno y nutrientes [6].
5. Inmortalidad replicativa, es decir, las células cancerosas se vuelven inmortales. Esto se debe a que, en las células sanas, en cada división celular los telómeros se acortan, de manera que llega una generación de células hijas que carecen de telómeros y su material genético comienza a degradarse, este es el proceso que se denomina senescencia. Las células en senescencia dejan de ser viables y mueren. Las

células cancerosas son capaces de evadir la senescencia puesto que en cada paso de división celular los telómeros permanecen intactos y producen millones de generaciones totalmente viables [7].

6. Metabolismo energético descontrolado: las células tumorales tienden a captar más eficientemente la glucosa y a promover la glucólisis de tal manera que ésta se desacopla del ciclo de Krebs y de la fosforilación oxidativa en la mitocondria.
7. Evaden las señales supresoras del crecimiento: el crecimiento celular normal está controlado tanto por factores que lo promueven como por factores que lo inhiben o suprimen, de los cuales uno de los más importantes es TGF- β (factor de crecimiento transformante beta). Este factor inhibe la proliferación, induce la diferenciación o promueve la apoptosis. En las células cancerosas, TGF- β mutado es incapaz de controlar la célula por eso proliferan, además actúa sobre las células circundantes causando inmunosupresión y estimulando la angiogénesis, permitiendo que los cánceres se vuelvan invasivos [3].
8. Capacidad para invadir otros órganos y metastatizarse: al contrario que las células sanas, las cancerosas adquieren la capacidad de migrar de su sitio original y de diseminarse a otros órganos. Esta capacidad se debe a que las células tumorales se unen unas a otras de forma diferente a como lo hacen las células sanas y a que promueven la secreción de unas enzimas, llamadas metaloproteínas, capaces de degradar la matriz extracelular lo que confiere una mayor libertad a la célula.
9. Inestabilidad genómica: en las células cancerosas se pueden producir acumulaciones de copias adicionales de ADN o de cromosomas, translocaciones cromosómicas, inversiones cromosómicas, deleciones cromosómicas, roturas de ADN, la intercalación de sustancias extrañas en la doble hélice del ADN. Todo ello conduce a alteraciones en la estructura, la composición y el número de cromosomas y a la expresión incorrecta de algunos genes que da lugar a células aberrantes.
10. Inducción de la inflamación: el microambiente tumoral a menudo está infiltrado por células del sistema inmune innatas y adaptativas como granulocitos y macrófagos. Estas células son atraídas hacia el tumor cuando éste todavía está comenzando a formarse y liberan una serie de citocinas que esti-

mulan la formación de nuevos vasos sanguíneos y la formación del estroma tumoral. De esta manera, la inflamación ayuda no sólo al mantenimiento del tumor sino a su desarrollo [3].

DIANAS TERAPÉUTICAS ANTICÁNCER

En todos los procesos acabados de describir y que son comunes a las células cancerosas, están implicadas multitud de biomoléculas, enzimas, factores de crecimiento, proteínas de señalización, etc., que se han convertido en potenciales dianas biológicas para el desarrollo de nuevos agentes anticáncer [8].

Entre estas dianas biológicas, se encuentran las siguientes:

1. La tubulina: es una proteína estructural que forma parte del citoesqueleto de la célula y que, cuando polimeriza, forma el huso mitótico necesario en la división celular. El huso mitótico atrapa a los cromosomas hijos y los arrastra hacia los dos extremos de la célula lo que permite la división física de la célula madre en dos células hijas. Cuando el huso mitótico arrastra los cromosomas hacia los dos polos puestos de la célula madre se produce en realidad lo que tiene lugar es la ruptura del huso por despolimerización de la tubulina.

La tubulina como proteína estructural se encuentra en forma de dímero formado por dos subunidades, una isoforma α y una isoforma β de la tubulina (Figura 2). El dímero lleva asociada siempre una molécula de GTP. El proceso de polimerización de los dímeros de tubulina es un proceso dinámico en el que los dímeros se van uniendo, mediante hidrólisis del GTP a GDP y forman una estructura cilíndrica hueca que recibe el nombre de microtúbulo. La posterior unión de los microtúbulos genera el conocido huso mitótico [9].

A los compuestos que son capaces de interactuar con tubulina e influir en el equilibrio de poli-

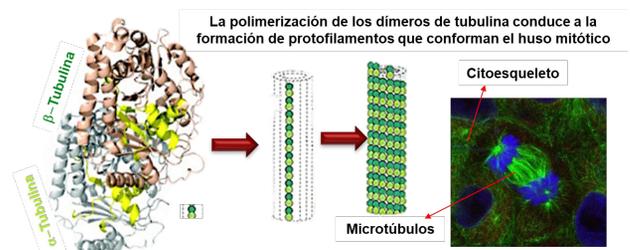
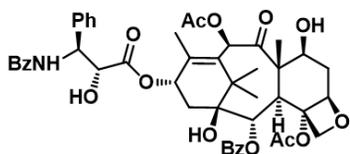


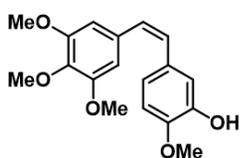
Figura 2. Estructura de la tubulina.

ESTABILIZANTES DE MICROTÚBULOS

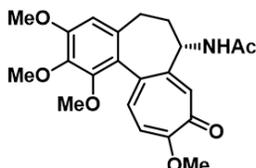


Paclitaxel (Taxol®)
(*Taxus brevifolia*)

DESESTABILIZANTES DE MICROTÚBULOS



Combretastatina A-4
(*Combretum caffrum*)



Colchicina
(*Colchicum autumnale*)

Figura 3. Productos naturales antimitóticos.

merización, paralizando así la mitosis, se les da el nombre de compuestos antimitóticos [8] (Figura 3). En la naturaleza existen muchos productos naturales con actividad antimitótica y éstos se clasifican en dos grandes grupos:

- Agentes estabilizantes: son aquellos que se unen a la tubulina impidiendo que microtúbulo despolimerice. Entre otros destaca el taxol, que es uno de los compuestos más usadas en la quimioterapia.
- Agentes desestabilizantes: son aquellos que se unen al dímero de tubulina impidiendo su polimerización. Entre estos podemos destacar la combretastina A4 y la colchicina [8].

2. La telomerasa: enzima relacionada con la inmortalidad replicativa o su gen asociado hTERT. Esta enzima se expresa en las células cancerosas pero no en las sanas. Se trata de una riboproteína con actividad retrotranscriptasa. La parte de ácido ribonucleico de la telomerasa se coordina con las bases nitrogenadas de los telómeros, actuando como cebador mientras que la parte proteica de la misma actúa como una polimerasa, incorporando nucleótidos al extremo del telómero, provocando su elongación. Algunos estudios han demostrado que la telomerasa sólo se muestra activa cuando se expresa el gen que codifica la parte proteica de la misma, llamado hTERT [7] de ahí que, éste oncogen se haya convertido en una diana biológica interesante para el desarrollo de agentes anticáncer [8].

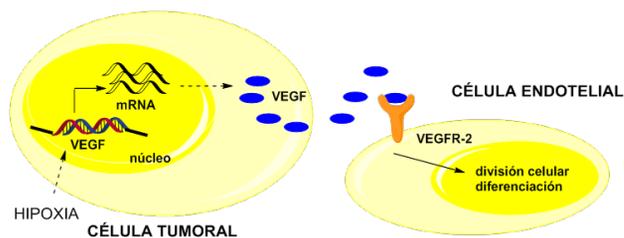


Figura 4. VEGF y VEGFR-2 en la angiogénesis tumoral.

3. El factor de crecimiento del endotelio vascular, VEGF y su receptor asociado (VEGFR-2). El VEGF es una proteína que se sobreexpresa en las células tumorales cuando estas entran en hipoxia o falta de oxígeno. La hipoxia se produce porque como el tumor crece rápidamente en todas las direcciones del espacio, adquiere forma esférica, de manera que, las células que quedan en el interior de la esfera tumoral, no están bien irrigadas y tienen dificultad para conseguir oxígeno y nutrientes. En ese momento, se activa la producción de VEGF, que se secreta al exterior celular y éste cuando se une al VEGFR-2, un receptor de membrana localizado en las células endoteliales que forman parte de la pared de los vasos sanguíneos activa la proliferación de dichas células y su diferenciación para formar nuevos capilares sanguíneos dirigidos hacia el tumor (Figura 4). De esta manera, las células cancerosas se aseguran el aporte de oxígeno y nutrientes necesarios para crecer [6].
4. PD-L1 es una nueva diana biológica que está implicada en la capacidad de las células cancerosas para evadir el sistema inmunológico. Se trata de una proteína de membrana que es el ligando endógeno de un receptor presente en las células defensivas, como son las células T. Cuando PD-L1 se une a su receptor PD-1, desactiva a la célula defensiva impidiendo su ataque (Figura 5). Las células tumorales activan la producción de PD-L1 de tal manera, que la interacción con las células defensivas conlleva no sólo la desactivación de las mismas, sino que también puede provocar su muerte [10].

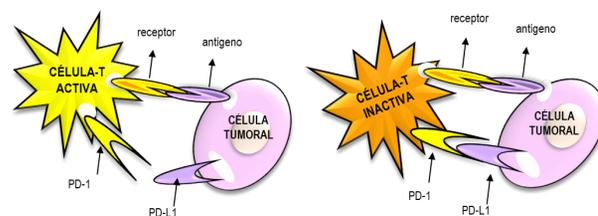


Figura 5. Esquema del papel de PD-L1 en el bloqueo del sistema inmunológico.

5. La proteína c-Myc, que está implicada en la capacidad de las células cancerosas para evadir la apoptosis y, además, como factor de transcripción, se ha demostrado que promueve la sobreproducción de VEGF [11], la activación del gen h-TERT [12], imprescindible para que la telomerasa sea activa e induce la síntesis de PD-L1 [13]. Muchas veces se presenta a c-Myc como un regulador maestro no solo de la proliferación sino también del metabolismo celular. Esto se debe a que el oncogén c-Myc es capaz de promover la proliferación celular a la vez que controla los cambios metabólicos que ocurren en las células cancerosas y que son necesarios por la mayor demanda de ácidos nucleicos, proteínas y lípidos asociada a esa proliferación estimulada [14].

El hecho de que en el cáncer están implicadas una gran variedad de genes y proteínas, ha permitido que en los últimos años se haya iniciado una nueva estrategia terapéutica consistente en desarrollar una única entidad química o molécula que sea capaz de actuar sobre diversas dianas anticáncer de manera simultánea. [15] Esta estrategia novedosa podría mejorar la eficacia del fármaco, además de reducir la resistencia a la quimioterapia [16].

En el siguiente apartado se van a describir las etapas que suponen el inicio del descubrimiento de un nuevo agente anticáncer multidiana, así como las herramientas de que disponen los investigadores para afrontar este tipo de proyecto. Antes de seguir adelante conviene aclarar que, en general, las etapas que se van a describir forman parte de lo que se considera investigación básica y que, a modo de ejemplo, se hace uso de un estudio reciente que permitió desarrollar nuevos derivados de colchicina con potencial aplicación anticáncer [17].

DESCUBRIMIENTO DE NUEVOS AGENTES ANTICÁNCER MULTIDIANA

La elección de la enfermedad para la cual desarrollar un nuevo fármaco, así como las dianas terapéuticas sobre las que incidir y la elección de un compuesto líder como modelo estructural inicial, son los primeros pasos a tener en cuenta. Una estrategia de la que disponen los investigadores para el desarrollo de nuevos agentes anticáncer, es la de escoger como compuesto líder, algún producto natural con actividad citotóxica, como la colchicina. La colchicina es un compuesto antimetabólico muy potente pero su margen de seguridad terapéutica es

muy estrecho por lo que no puede usarse como fármaco antitumoral. Estudios previos habían demostrado que la colchicina, además de unirse a tubulina, es capaz de inhibir la expresión de los oncogenes que promueven la producción de las proteínas VEGF, hTERT y c-MYC que son de suma importancia en el proceso de generación de cáncer. De ahí que las dianas terapéuticas escogidas en este caso sean precisamente las acabadas de nombrar y el objetivo era encontrar moléculas que presentaran un margen terapéutico útil [18].

A continuación, se efectúan modificaciones estructurales del compuesto líder y mediante estudios de docking se puede comprobar, *in silico*, si éstas afectarían o no a la interacción con la diana original del líder [19]. En el caso que nos ocupa, se diseñaron una serie de compuestos en los que el residuo de *N*-acetilo de la colchicina se reemplaza por grupos *N*-haloacetilo, *N*-ciclohexilacetilo, *N*-fenilacetilo y *N*-arilo. Mediante estudios docking, se pudo comprobar que estos derivados siguen siendo capaces de unirse a la tubulina en el mismo sitio de unión de la colchicina y en una conformación similar al producto natural, por lo que se preveía que los derivados mantendrían la actividad antimetabólica del producto natural [20].

Una secuencia sintética de tres pasos permite obtener de forma eficiente los compuestos mostrados en la Figura 6 donde entre paréntesis aparecen los rendimientos químicos de su obtención.

Una vez sintetizados los compuestos comienza la evaluación biológica de los mismos. En primer lugar, se evalúa su capacidad para inhibir la proliferación celular y, posteriormente, se efectúan los ensayos encaminados a determinar su interacción con las dianas biológicas escogidas [18].

Inhibición de la proliferación celular

En la evaluación de compuestos como potenciales agentes anticáncer, el primer estudio que se efectúa es el de su capacidad para inhibir la proliferación de células tumorales. Mediante ensayo MTT se establece el valor de IC_{50} que es la concentración del compuesto que permite reducir el crecimiento celular a la mitad respecto a una población de células sin tratar. Además, puede estudiarse también la capacidad para inhibir la proliferación de células no cancerosas. La relación entre el IC_{50} de un compuesto para una línea no cancerosa y el IC_{50} de ese compuesto en una línea tumoral, se denomina índice de selectividad. Un índice de selectividad elevado permite

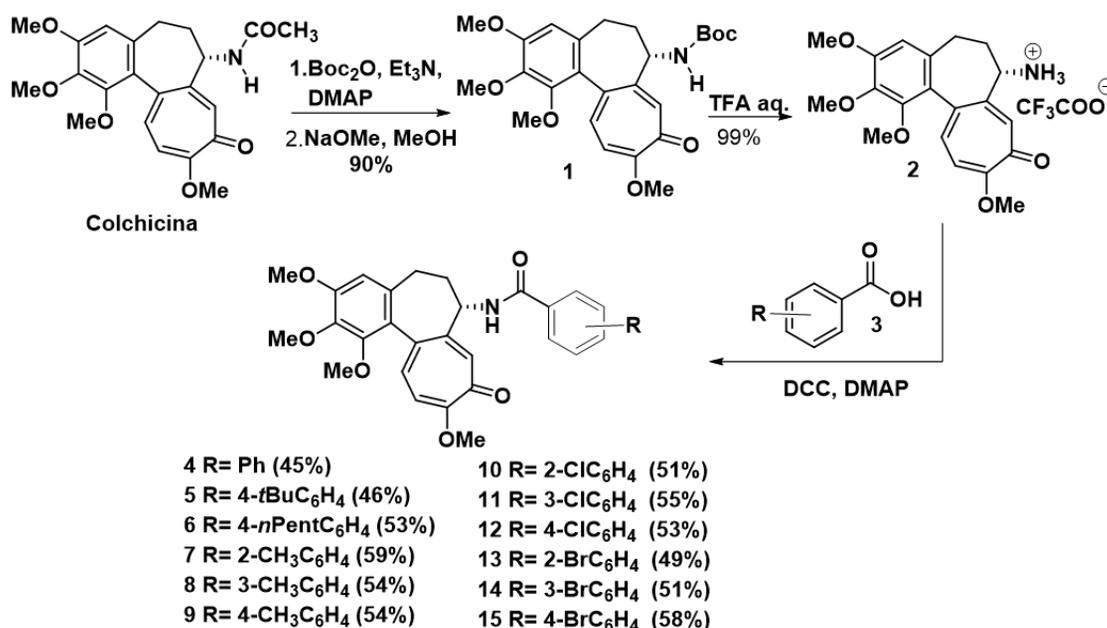


Figura 6. Esquema de la síntesis de los derivados de colchicina.

ensayar la actividad del compuesto frente a las dianas a dosis para las cuales su toxicidad en células sanas es mínima. En la tabla I se indica el IC_{50} y los índices de selectividad de algunos de los compuestos sintetizados en líneas de células humanas, dos tumorales, adenocarcinoma de colon (HT-29) y adenocarcinoma de pulmón (A-549) y una no cancerosa, células embrionarias de riñón (HEK-293). Los compuestos 10, 12, 14 y 15 presentan índices de selectividad mayores de 1, muy superiores a la del compuestos líder.

Estudio de la interacción con tubulina

Estudio de la inhibición de la polimerización de tubulina

Para determinar si un compuesto es capaz de interferir en el proceso de polimerización de tubulina que condu-

ce a la formación de huso mitótico, se efectúa un ensayo de turbidimetría. La tubulina dimérica es soluble en agua, pero cuando su solubilidad va disminuyendo a medida que polimeriza, lo que genera en el seno de la reacción una turbidez. Mediante un espectrómetro se puede medir la turbidez de la disolución en función del tiempo, lo que genera cinéticas similares a la de las mostradas en la Figura 7A. La fase de nucleación supone el inicio de la reacción de polimerización y, por tanto, la aparición de una leve turbidez en la mezcla de reacción. La fase de elongación se da a medida que el equilibrio se desplaza a la derecha dando lugar a protofilamentos y microtúbulos y, finalmente, la fase de meseta se establece una vez la reacción alcanza el equilibrio, en el que el tamaño del microtúbulo es constante en el tiempo. En esta fase la turbidez se mantiene constante.

Tabla I. Valores de IC_{50} (nM) e índices de selectividad.

COMPUESTO	HT-29	A-549	HEK-293	SI_A^a	SI_B^b
Colchicina	50 ± 3	$12,2 \pm 0,7$	5 ± 1	0,1	0,4
10 (<i>o</i> -cloro)	$9,0 \pm 2,2$	$8,8 \pm 1,2$	$16,1 \pm 0,6$	1,8	1,8
11 (<i>m</i> -cloro)	$4,2 \pm 1,2$	$1,27 \pm 0,4$	$1,6 \pm 0,4$	0,4	1,3
12 (<i>p</i> -cloro)	$32,7 \pm 2,1$	36 ± 6	58 ± 11	1,8	1,6
13 (<i>o</i> -bromo)	$2,3 \pm 0,4$	13 ± 3	$5,93 \pm 0,06$	2,6	0,5
14 (<i>m</i> -bromo)	$1,8 \pm 0,3$	$3,1 \pm 1,1$	$3,0 \pm 0,3$	1,7	1,0
15 (<i>p</i> -bromo)	1,79	$\pm 0,15$	$6,6 \pm 1,0$	$10,1 \pm 2,4$	5,6

$^a\text{SI}_A = \text{IC}_{50}(\text{HEK-293})/\text{IC}_{50}(\text{HT-29})$; $^b\text{SI}_B = \text{IC}_{50}(\text{HEK-293})/\text{IC}_{50}(\text{A-549})$

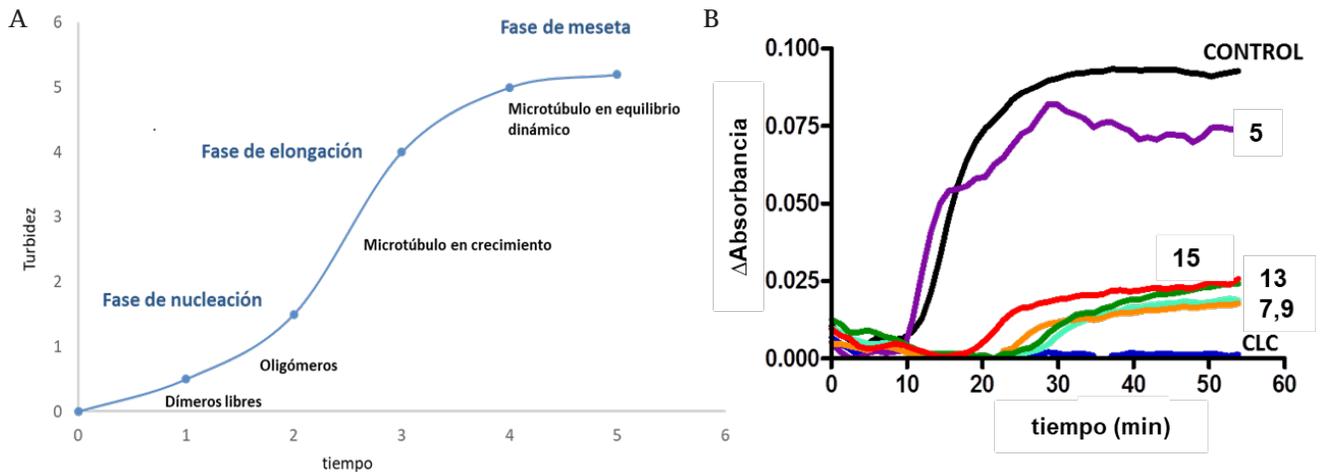


Figura 7. (A) Etapas del proceso de polimerización de la tubulina. (B) Cinéticas de la polimerización de tubulina en presencia de los derivados de colchicina.

La colchicina (CLC en la Figura 7B) actúa uniéndose a la tubulina dimérica e impidiendo su polimerización por lo que genera cinéticas de polimerización totalmente horizontales sobre el eje de las abscisas puesto que la turbidez nunca llega a generarse. En la gráfica 6B, se muestran las cinéticas de polimerización de los diferentes derivados de colchicina. Como se observa todos los derivados se comportan de manera similar a la colchicina inhibiendo la polimerización de la tubulina excepto el compuesto 5, probablemente debido al efecto estérico del grupo t-butilo que presenta en su estructura que dificulta el acceso de la molécula al centro de unión con la diana.

Estudio del efecto en el ciclo celular

El ciclo celular es el conjunto de etapas que llevan al desarrollo de la célula y, finalmente, a su división (Figura 8). Las fases que engloban el ciclo celular son las siguientes:

- Fase G_0 : es aquella en la que la célula ya madura se encuentra latente ejerciendo su función según el tejido del que forme parte.
- Fase G_1 : la célula se prepara para la división, duplica su tamaño y la cantidad de orgánulos.
- Fase S: en esta etapa tiene lugar el proceso de replicación del ADN. Durante esta fase la célula va aumentando el número de cromosomas ($>2n$) y finaliza cuando se duplica la cantidad de ADN ($4n$).
- Fase G_2 : cuando la célula ya ha duplicado el material genético ($4n$), la célula comienza a preparar todas las estructuras necesarias la división física de la célula madre en dos células hijas.

- Fase M: en esta etapa se produce la separación de los dos juegos de cromosomas y la división del citoplasma para generar las dos células hijas independientes.

Los compuestos que interaccionan con tubulina inhibiendo su polimerización provocan la parada del ciclo celular en la fase G_2/M [21].

La citometría de flujo es una técnica que permite analizar, una a una, las células de una población determinada que, previamente, ha sido marcada con yoduro de propidio. El yoduro de propidio es un agente intercalante de las bases nitrogenadas que queda anclado en el ADN de las células y, cuando es excitado por una radiación láser azul (495 nm), emite fluorescencia (617 nm). La intensidad de la fluorescencia que emite una célula cuando es irradiada por el láser es directamente proporcional a la cantidad de ADN que ésta posee en su interior. Un histograma es, precisamente, una representación gráfica del número de células que contienen una determinada cantidad de ADN. Cuando se trata de células eucariotas en fase latente, la cantidad de ADN es constante e igual a $2n$, en las células que se encuentran en fase G_2/M , la cantidad de ADN es el doble, puesto que ya han duplicado su material genético, mientras que en aquellas se encuentran en fase S, la cantidad de ADN es mayor que $2n$ pero menor que $4n$ (Figura 8) [21].

Los compuestos como la colchicina, después de 24 h de tratamiento, son capaces de detener el ciclo de las células en fase G_2/M por lo que más de la mitad de la población se encuentra en esta fase, cuando lo normal es que haya un 10-20% de la población total. En el caso que nos ocupa, todos los derivados de colchicina excep-

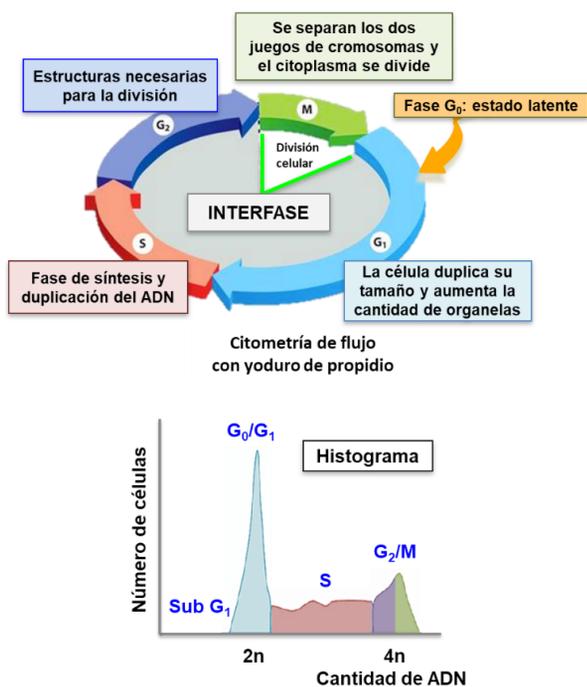


Figura 8. Fases del ciclo celular e histograma.

to el compuesto 5, son capaces de acumular más del 40 % de la población celular en fase G_2/M . Cabe destacar por su mayor actividad los compuestos 10 (*o*-cloro), 11 (*m*-cloro), 14 (*m*-bromo) y 15 (*p*-bromo) ya que son capaces de acumular más del 55% de las células en fase G_2/M a una concentración de 20 nM menor incluso que la propia colchicina, que es de 50 nM.

Este es un ejemplo claro de cómo una pequeña modificación estructural en el compuesto líder puede servir para potenciar una actividad biológica determinada.

Estudio de la inhibición de oncogenes

La evaluación de la capacidad de un compuesto para inhibir la expresión de genes en una célula se efectúa utilizando la técnica denominada PCR o reacción de polimerización en cadena. Esta técnica permite amplificar cualquier fragmento de material genético para lo que es necesario utilizar los cebadores adecuados. Los cebadores son los oligonucleótidos complementarios a los que se encuentran al inicio del gen que se quiere amplificar. Son los encargados de “marcar” el gen o el fragmento de ácido nucleico que la polimerasa debe copiar. Para saber si un compuesto es capaz de impedir o reducir la activación de un oncogén en la célula tumoral, es necesario extraer el ARNm de las células tratadas con el compuesto (Figura 9). De esta manera se puede averiguar, qué genes estaban activos y se estaban expresando en la célula. A partir del ARNm obtenido en la extracción, y

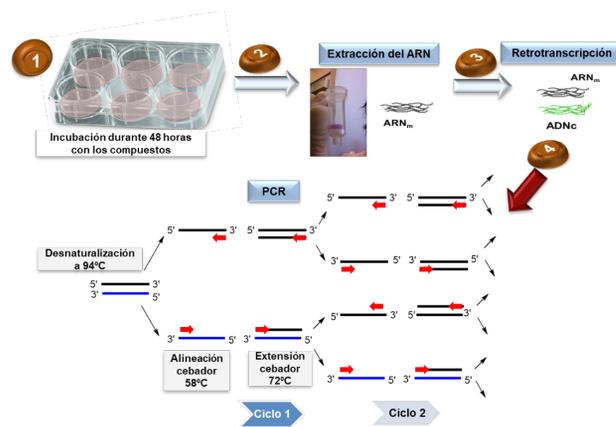


Figura 9. Ensayo de polimerización en cadena.

mediante el uso de una enzima de tipo retrotranscriptasa, se sintetiza la hebra de ADN complementaria al ARNm y estas dos hebras son las que se utilizan en la amplificación (PCR). La PCR consiste en tres etapas que se repiten cíclicamente entre 30 y 35 veces. Las tres etapas que se repiten son las siguientes:

1. Desnaturalización de las hebras: tiene lugar entre 94 y 95°C y supone la separación de las dos hebras que conforman el material genético a amplificar. En el caso que nos ocupa, en el primer ciclo, una de las hebras será ARNm y la otra el ADNc.
2. Alineación: tiene lugar entre 55 y 60°C y durante esta etapa los cebadores se coordinan cada una de las hebras de material genético a través de sus bases complementarias.
3. Extensión: tiene lugar entre 70 y 72°C y en esta etapa la enzima polimerasa construye, a partir del cebador, las nuevas hebras de ADN complementarias a las que ya existen.

En el caso de los derivados de colchicina, este proceso se efectúa utilizando como cebadores los que permiten amplificar los tres oncogenes a estudiar: VEGF, hTERT y c-MYC así como un gen endógeno, β -ACT, que codifica a la actina, una proteína estructural necesaria para la viabilidad celular. Teniendo en cuenta los valores de amplificación tanto de los oncogenes como del gen endógeno, en las células tratadas y en las células sin tratar (control), se puede determinar el porcentaje de oncogén que se expresa en presencia del compuesto respecto al que se expresa en ausencia del mismo (control). Es decir, se puede determinar si el compuesto es capaz de reducir la activación del oncogén en las células tumorales. En la Figura 10 se muestran los porcentajes de expresión de los genes VEGF, hTERT y c-MYC en las células de adenocarcinoma de colon después de 48 horas

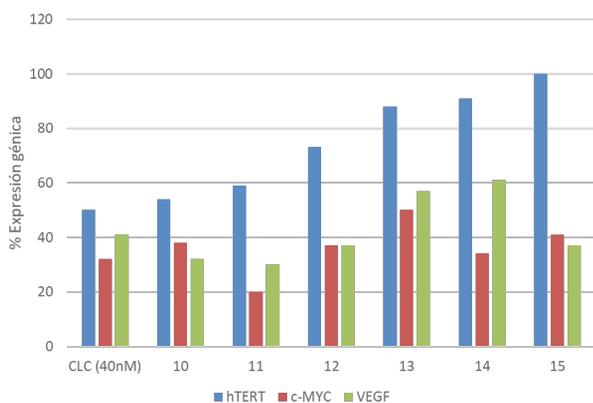


Figura 10. Porcentaje de expresión génica.

de tratamiento con los derivados seleccionados de colchicina. Hay que destacar que la concentración a la que se ensayaron los compuestos fue de 1.5 nM muy por debajo de la concentración a la que la colchicina muestra actividad (40 nM).

DESCUBRIMIENTO DE NUEVOS AGENTES ANTICÁNCER MULTIDIANA

Una vez encontrada una o varias estructuras que mejoran y potencian la interacción con las dianas seleccionadas respecto a la de la estructura líder, el siguiente paso lógico es el desarrollo de los estudios *in vivo*. Los estudios *in vivo* más inmediatos son en animales pequeños, generalmente ratones, y permiten establecer las dosis letales y la seguridad terapéutica del compuesto. Si los resultados son positivos, se pasa a evaluar su potencial como agente anticáncer en animales. En el caso de ejemplo que hemos seguido a lo largo de este artículo, el compuesto que se seleccionaría para la evaluación *in vivo* sería el compuesto 10 puesto que reúne los mejores valores en cuanto a índices de selectividad, interacción con la tubulina (datos de ciclo celular) e inhibición de la expresión de los tres oncogenes diana (Figura 11). Para terminar cabe destacar que todo el trabajo a partir de este punto supone el esfuerzo y la colaboración de grupos de investigación de disciplinas diferentes como son la química, la biología y la medicina.

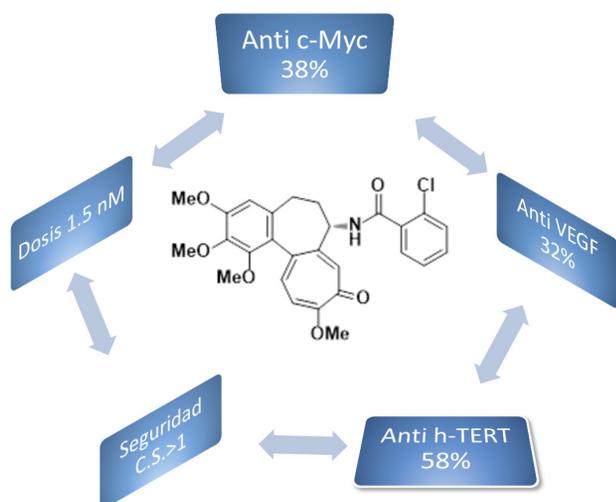


Figura 11. Potencial agente anticáncer multidiana.

in vivo sería el compuesto 10 puesto que reúne los mejores valores en cuanto a índices de selectividad, interacción con la tubulina (datos de ciclo celular) e inhibición de la expresión de los tres oncogenes diana (Figura 11). Para terminar cabe destacar que todo el trabajo a partir de este punto supone el esfuerzo y la colaboración de grupos de investigación de disciplinas diferentes como son la química, la biología y la medicina.

REFERENCIAS

- [1] Las Cifras del Cáncer en España 2016, Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM), Depósito Legal: M-2172-2017, 2017.
- [2] www.aecc.es (marzo 2018).
- [3] Hanahan D, Weinberg RA (2000). Hallmarks of cancer. *Cell* 100, 57–70.
- [4] Hanahan D, Weinberg RA (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144, 646–674.
- [5] Vinay DS, Ryan EP, Pawalec G, Talib WH, Stagg J, Elkord E, Lichter T, Decker WK, Whelan RL, Kumara S, Signori E, Honoki K, Georgakilas AG, Amin A, Helferich WG, Boosani CS, Guha G, Ciriolo MR, Kwon BS (2015). Immune evasion in cancer: Mechanistic basis and therapeutic strategies. *Seminars in Cancer Biology* 35, 185–198.
- [6] Rodríguez-Quesada A, Medina MA, Muñoz-Chapoli R (2004). Angiogenesis, 1ª ed. Servicio de publicaciones de la Universidad de Málaga.
- [7] Blackburn EH (2005). Telomerase and cancer. *Molecular Cancer Research* 3, 477–482.
- [8] Kumar S, Ahmad MK, Wasseem M, Pandey AK (2015). Drug Targets for Cancer Treatment: An Overview. *Medicinal Chemistry* 5, 115–123.
- [9] Nogales E, Wolf, SG, Downing, KH (1998). Structure of the α,β -tubulin dimer by electron crystallography. *Nature* 391, 199–203.
- [10] Pardoll DM (2012). The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Cancer* 12, 252–264.
- [11] Baudino TA, McKay C, Pandeville-Samain H, Nilsson JA, Maclean KH, White EL, Davies AC, Ihle JH, Cleveland JL (2002) Myc is essential for vasculogenesis and angiogenesis during development and tumor progression. *Genes and Development* 16, 2530–2546.

- [12] Zhao Y, Cheng D, Wang S, Zhu J (2014). Dual roles of c-Myc in the regulation of hTERT gene. *Nucleic Acids Research* 42, 10385–10398.
- [13] Casey SC (2017). MYC: Master regulator of immune privilege. *Trends in Immunology* 38, 298–305.
- [14] Miller DM, Thomas SD, Islam A, Muench D (2012). c-Myc and cancer metabolism. *Clinical Cancer Research* 18, 5546–5553.
- [15] Raghavendra NM, Pingili D, Kadasi S, Mettu A, Pradsad SVUM (2018). Dual or multi-targeting inhibitors: The next generation of anticancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* 143, 1277–1300.
- [16] Zheng W, Zhao Y, Luo Q, Zhang Y, Wu K, Wang F (2018). Multi-Targeted Anticancer Agents. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 17, 3028–3098.
- [17] Marzo-Mas A, Falomir E, Murga J, Carda M, Marco JA (2018). Effects on tubulin polymerization and down-regulation of c-Myc, hTERT and VEGF genes by colchicine haloacetyl and haloaroyl derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* 150, 591–600.
- [18] Vilanova C, Díaz-Oltra S, Murga J, Falomir E, Carda M, Marco JA (2015). Inhibitory effect of pironetin/colchicine hybrids on the expression of the VEGF, hTERT and c-MYC genes. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 25, 3194–3198.
- [19] Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, Olson DJ (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *Journal of Computational Chemistry* 30, 2785–2791.
- [20] Ravelli RB, Gigant B, Curmi PA, Jourdain I, Lachkar S, Sobel A (2004). Insight into tubulin regulation from a complex with colchicine and a stathmin-like domain. *Nature* 428, 198–202.
- [21] Boticario C, Cascales M (2009). Innovaciones en cancer. Ed. UNED. Universidad Nacional de Educación a Distancia, Madrid.

Eva Falomir Ventura

Dpto. de Química Inorgánica y Orgánica
Universidad Jaume I