

Evaluación *in vitro* de la actividad anticancerígena de nuevas moléculas con afinidad al sitio de unión de la colchicina en la β -tubulina en líneas celulares

Elizeth Pioquinto Avila^a, Eder Ubaldo Arredondo Espinoza^a, Mónica Azucena Ramírez Cabrera^a, Fabián Olazarán Santibáñez^a, Gildardo Rivera Sánchez^b, Isaías Balderas Rentería^a.

^aLaboratorio de Ingeniería Genética y Genómica, División de Estudios de Posgrado, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. ^bCentro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Reynosa, 88710, México.
E. mail: earredondoes@gmail.com

Palabras Clave: anticancerígena, colchicina, MTAs, tubulina.

Introducción

Existen medicamentos que interrumpen la dinámica de los microtúbulos, los cuales son extensamente usados en la quimioterapia. Estos actúan uniéndose a la proteína heterodimérica tubulina que forma el núcleo de los microtúbulos. Los agentes de unión a microtúbulos (MTAs por sus siglas en inglés) inhiben la proliferación celular y promueve la muerte celular por medio de apoptosis, al suprimir la dinámica de los microtúbulos.¹

En los últimos años varias moléculas se han sometido a un screening virtual con la finalidad de conocer que tan afín son al sitio de unión de la colchicina en la tubulina.² Por tanto, la finalidad del presente trabajo es evaluar *in vitro* la actividad citotóxica y la inducción de apoptosis de compuestos que son afines al sitio de unión de la colchicina en la tubulina.

Parte experimental

El análisis *in silico* se realizó en un cluster de computación de alto rendimiento (HPCC por sus siglas en inglés). La estructura de la proteína se obtuvo del banco de datos de proteínas (PDB). Los compuestos a evaluar se obtuvieron de las compañías MolMall, Mcule y MolPort. Las líneas celulares que se utilizaron fueron de cáncer de cérvix (SiHa ATCC: HTB-35TM), cáncer de mama (MCF-7 ATCC: HTB-22TM) y la línea celular Chang ATCC-CCL-13TM. Para el ensayo *in silico* los compuestos fueron estudiados a través de acoplamiento molecular mediante el programa de vina AutoDock³. La evaluación de la actividad anticancerígena y citotóxica se llevó a cabo por la técnica de WST-1 y la determinación de la actividad apoptótica mediante el kit de la caspasa-3 con el substrato Z-DEVD-R110. Los ensayos de actividad citotóxica y anticancerígena se realizaron por triplicado en tres ensayos independientes en placas de 96 pocillos y se colocaron aproximadamente 5000 células por pozo⁴; la exposición de los compuestos fue por 48 horas, utilizando las siguientes concentraciones 112.5, 225, 450, 900, 1800, 3600 y 7200 nM. La actividad apoptótica se realizó como lo indica el Kit; las células tratadas se dejaron durante 7 horas a una concentración de 7200 nM.

Resultados y Discusión

Los compuestos presentaron alta afinidad al sitio de unión de la colchicina en la β -tubulina (G-311 con valor de -11.6 Kcal/mol, G-898 con -10.7 Kcal/mol, G-309

con -10.6 Kcal/mol y colchicina con -7.4 Kcal/mol). En la tabla 1 se muestran los resultados de evaluación de la actividad anticancerígena y citotóxica de los compuestos en estudio. El compuesto G-898 en comparación con colchicina, cuentan con porcentajes de viabilidad similares obteniendo 73.46%-63.70% para el G-898 y 75.09%-66.31% para colchicina a las concentraciones de 3600 y 7200 nM. En la Figura 1 se observa la actividad de la enzima caspasa-3, en la cual se mide la intensidad de fluorescencia, el compuesto G-311 presentó mayor actividad incluso comparada con podofilotoxina y el G-309 indicó un valor de intensidad similar a la colchicina.

Línea Celular	Compuestos	nM						
		112.5	225	450	900	1800	3600	7200
Chang	309	107.48±4	104.51±7	106.23±8	108.05±5	104.56±5	102.99±6	94.25±5
	898	98.59±5	97.13±14	86.75±5	83.95±4	81.57±4	73.46±3	63.70±5
	311	104.28±7	101.84±9	103.56±11	100.17±10	104.01±8	104.71±8	108.25±8
SiHa	Colchicina	57.02±3	62.85±5	69.08±6	73.17±6	75.48±6	75.09±7	66.31±4
	309	97.57±5	96.04±6	100.73±4	99.21±5	109.68±5	103.94±4	111.81±5
	898	102.58±4	104.81±7	93.96±8	83.52±8	89.37±11	92.95±7	62.63±4
MCF-7	311	103.10±3	101.16±3	101.82±4	98.61±5	107.46±8	113.82±5	105.15±3
	Colchicina	68.81±3	70.68±4	73.30±4	72.51±5	75.21±4	78.80±5	71.99±3
	309	107.06±5	110.87±6	111.99±5	114.05±6	117.07±3	119.38±3	109.27±4
MCF-7	898	106.69±6	108.64±6	115.53±3	116.39±5	117.41±3	117.18±2	107.62±4
	311	100.06±6	102.33±4	112.39±3	113.55±3	117.34±3	116.99±4	110.62±3
	Colchicina	77.88±5	84.23±9	97.45±8	97.78±8	99.40±12	99.92±9	68.15±3

Tabla 1. Actividad anticancerígena y citotóxica de los compuestos en estudio

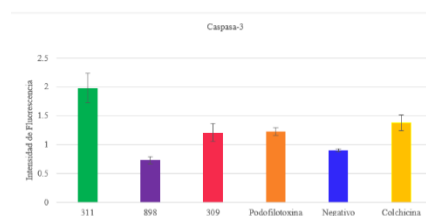


Figura 1. Actividad de la enzima caspasa-3

Conclusiones

El compuesto G-898 presentó actividad citotóxica sobre células Chang y SiHa. En la determinación de actividad apoptótica el compuesto G-311 indujo apoptosis, mientras que el G-898 no produjo efecto apoptótico, posiblemente la citotoxicidad presentada se lleve a cabo por vía necrótica. Por tanto, se sugiere continuar con las evaluaciones de ambos compuestos para una posible aplicación como anticancerígenos.

Referencias:

1. Anna, A.; Michel, O. Mol Cell Bio. **2015**, 16, 711-726.
2. Yan, L.; Jianjun, C. Pharma Res. **2012**, 11, 2943-2971.
3. Olazarán, F.; García, C.J Mol Model. **2017**, 23.
4. Arredondo, E.; López, S. Biomed Pharmacother. **2016**, 82, 327-336.