

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO
COLEGIO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
POSGRADO DE CIENCIAS GENÓMICAS

UACM

Universidad Autónoma
de la Ciudad de México

Nada humano me es ajeno

**Estudio del potencial antiproliferativo y los
blancos moleculares de las chalconas
preniladas en el cáncer de próstata resistente a
la castración (CPRC).**

Tesis

Que para optar por el grado de

Maestro en ciencias genómicas

Presenta

Morales Reyna Marcos

Directora

Dra. María Elizabeth Álvarez Sánchez

Ciudad de México, junio, 2023

**POSGRADO
EN CIENCIAS
GENÓMICAS**

SISTEMA BIBLIOTECARIO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO COORDINACIÓN ACADÉMICA

RESTRICCIONES DE USO PARA LAS TESIS DIGITALES

DERECHOS RESERVADOS[©]

La presente obra y cada uno de sus elementos está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor; por la Ley de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México, así como lo dispuesto por el Estatuto General Orgánico de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México; del mismo modo por lo establecido en el Acuerdo por el cual se aprueba la Norma mediante la que se Modifican, Adicionan y Derogan Diversas Disposiciones del Estatuto Orgánico de la Universidad de la Ciudad de México, aprobado por el Consejo de Gobierno el 29 de enero de 2002, con el objeto de definir las atribuciones de las diferentes unidades que forman la estructura de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México como organismo público autónomo y lo establecido en el Reglamento de Titulación de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México.

Por lo que el uso de su contenido, así como cada una de las partes que lo integran y que están bajo la tutela de la Ley Federal de Derecho de Autor, obliga a quien haga uso de la presente obra a considerar que solo lo realizará si es para fines educativos, académicos, de investigación o informativos y se compromete a citar esta fuente, así como a su autor ó autores. Por lo tanto, queda prohibida su reproducción total o parcial y cualquier uso diferente a los ya mencionados, los cuales serán reclamados por el titular de los derechos y sancionados conforme a la legislación aplicable.

INTEGRACIÓN DEL JURADO:

Presidente: Dr. Mario César López Camarillo (UACM)

Secretario: Dra. María Elizabeth Álvarez Sánchez (UACM)

Vocal: Dr. Edgar Antonio Estrella Parra (UNAM)

1 er. Suplente: Dra. Ángeles Concepción Tecalco Cruz (UACM)

Plantel de adscripción:

PLANTEL DEL VALLE, UACM.

DIRECTOR

Dra. María Elizabeth Álvarez Sánchez
Universidad Autónoma de la Ciudad de México

Agradecimientos

Agradezco de manera especial a todas las personas e instituciones que contribuyeron de manera significativa en la realización de este trabajo de investigación y en el logro de mi maestría. Su apoyo, orientación y motivación han sido fundamentales en este camino académico.

En primer lugar, deseo expresar mi más sincero agradecimiento a mi directora de tesis, la Dra. María Elizabeth Álvarez Sánchez, por su guía experta, su paciencia y su compromiso a lo largo de todo el proceso de investigación. Sus conocimientos, experiencia y apoyo incondicional fueron fundamentales para el desarrollo y culminación de este trabajo.

Asimismo, agradezco a los miembros de mi comité de tesis, al Dr. Edgar Antonio Estrella Parra y Dr. Mario César López Camarillo, por su invaluable aporte y valiosas sugerencias que contribuyeron a enriquecer mi investigación y mejorar la calidad de este trabajo. Sus comentarios y retroalimentación fueron de gran importancia para su desarrollo.

Por último, agradezco a la Universidad Autónoma de la Ciudad de México por brindarme la oportunidad de cursar esta maestría, por los recursos y el ambiente propicio para llevar a cabo mi investigación.

Dedicatoria

A mis padres y hermana que me han apoyado en cada paso a lo largo de mi trayectoria profesional, por ser un soporte con el cual siempre puedo contar.

A mis amigos; a Leslie por su ayuda y apoyo durante este pesado proceso, a Paola, Campoy, Fernando, Mariana y Gahel quienes han compartido conmigo su conocimiento, experiencias y amistad a lo largo de esta etapa de mi formación académica. Sus discusiones, colaboraciones y apoyo mutuo fueron fundamentales para mi crecimiento personal y profesional.

No puedo dejar de mencionar a mi familia, quienes siempre han estado a mi lado brindándome su apoyo incondicional y motivándome a seguir adelante en momentos de dificultad. Agradezco su comprensión, paciencia y amor, los cuales me han dado la fortaleza necesaria para alcanzar este logro.

“En ocasiones me detengo a observar y respiro.

Analizo el largo camino recorrido,

*Contemplando los escombros
que debieron ser removidos para seguirlo.*

Miro adelante, observo y sonrío,

Al saber que aun queda camino para vivirlo.”

Marcos Morales Reyna

Contenido

Resumen.....	1
Introducción.....	3
Cáncer.....	3
Hallmarks del cáncer	7
Evasión de la apoptosis	7
Potencial replicativo ilimitado.....	11
Angiogénesis sostenida	14
Invasión de tejidos y metástasis.....	18
Desregulación epigenética	21
Microbioma alterado	23
Diferenciación y transdiferenciación.....	24
Señalización neuronal alterada	27
Evasión inmunológica y resistencia a los fármacos.....	28
Cáncer de próstata	31
Estructura y función del receptor de andrógenos (AR).....	35
Detección y tratamiento del cáncer de próstata.	38
Chalconas	40
Justificación	44
Hipótesis.....	44
Objetivo general.....	44
Objetivos particulares	45
Estrategia experimental	46
Materiales y métodos	47
Chalconas	47
Líneas celulares	47
Análisis de viabilidad celular por ensayo de MTT y cálculo de índice de selectividad	47
Análisis del potencial de membrana mitocondrial.....	48
Ensayo de apoptosis por anexina V.....	49
Docking molecular.....	49
Predicción de parámetros ADME, objetivos macromoleculares y análisis de enriquecimiento KEGG.....	50
Análisis estadístico	50

Resultados	51
Viabilidad celular	51
Inducción de apoptosis	54
Efecto de las chalconas sobre el potencial de la membrana mitocondrial.....	56
Morfología.....	57
Docking molecular.....	60
Predicción de parámetros ADME, objetivos macromoleculares y análisis de enriquecimiento KEGG.....	63
Análisis de enriquecimiento vía Enrichr y oncopression.....	81
Discusión	84
Conclusión	92
Referencias.....	94
Productividad	122

Resumen

En México el cáncer de próstata posee la tasa de incidencia y mortalidad más alta en hombres, con una cifra cercana a 10 millones de muertes en el 2020 y una tasa de mortalidad de uno por cada seis casos. Aun cuando existen tratamientos que consisten en la deprivación de andrógenos (ADT) que ayudan a suprimir el tumor, la reincidencia del crecimiento tumoral cancerígeno es frecuente en pacientes que han sido tratados con ADT, desarrollando cáncer de próstata resistente a la castración (CPRC). A pesar del progreso en la búsqueda de nuevos tratamientos para esta forma avanzada de cáncer de próstata, la mayoría de los pacientes finalmente mueren a causa de la enfermedad. En los últimos años se las chalconas han sido motivo de estudio debido a su estructura y abundancia en una gran diversidad de especies vegetales comestibles, convirtiéndolas en una molécula prometedora para la búsqueda de nuevos fármacos

Se utilizó un grupo de chalconas preniladas para evaluar la actividad anticancerígena contra las líneas celulares PC3 y DU 145 de cáncer de próstata resistentes a la castración. Entre la serie de chalconas probadas, PVONA/3F y PVINA/2Cl mostraron la mejor actividad anticancerígena con un IC₅₀ de 88.73 y 61.71 μM , respectivamente frente a la línea celular DU 145, para el caso de la línea celular PC3, el IC₅₀ para ambas chalconas se determinó en 54.969 y 57.22 μM respectivamente. Estas chalconas fueron seleccionadas para llevar a cabo los siguientes experimentos. Se detectaron cambios en el potencial de membrana y en la morfología de las líneas celulares ocasionados por la interacción con las chalconas. Finalmente se realizó un acoplamiento molecular donde se determinó la probabilidad de unión a dianas terapéuticas involucradas en la resistencia a las drogas, demostrando que estas chalconas pueden unirse a ellas en sus sitios activos, pudiendo actuar como bloqueador de las mismas.

Palabras clave: Chalconas, cáncer de próstata, farmacorresistencia, actividad anticancerígena, acoplamiento molecular.

Abstract

In Mexico, prostate cancer has the highest incidence and mortality rate in men, with a figure close to 10 million deaths in 2020 and a mortality rate of one for every six cases. Even though there are treatments that consist of androgen deprivation (ADT) that help suppress the tumor, recurrence of cancerous tumor growth is frequent in patients who have been treated with ADT, developing castration-resistant prostate cancer (CRPC). Despite progress in finding new treatments for this advanced form of prostate cancer, most patients ultimately die from the disease. In recent years, chalcones have been the subject of study due to their structure and abundance in a great diversity of edible plant species, making them a promising molecule for the search for new drugs.

A pool of prenylated chalcones was extracted to assess anticancer activity against castration-resistant prostate cancer cell lines PC3 and DU 145. Among the series of chalcones tests, PVONA/3F and PVINA/2Cl showed the best anticancer activity with an IC₅₀ of 88.73 and 61.71 μ M, respectively against the DU 145 cell line, in the case of the PC3 cell line, the IC₅₀ for both chalcones were prolonged by 54.969 and 57.22 μ M respectively. These chalcones were selected to carry out the following experiments. Changes in the membrane potential and in the morphology of the cell lines caused by the interaction with the chalcones are detected. Finally, a molecular commitment was made where the probability of binding to therapeutic targets involved in drug resistance will be prolonged, demonstrating that these chalcones can bind to them in their active sites, being able to act as a blocker of them.

Keywords: Chalcones, prostate cancer, drug resistance, anticancer activity, molecular docking.

Introducción

Cáncer

El cáncer es una enfermedad mayoritariamente de carácter multifactorial, en la cual las células pierden la capacidad de restringir su crecimiento, logrando en ocasiones diseminarse a otras partes del cuerpo (Cancer (IARC), s. f.; DeVita et al., 2019).

En general, para poder hablar de cáncer, la masa tumoral debe tener un tamaño de 1 cm o tener un conteo de 1 millón de células (*Base celular y molecular del cáncer - Hematología y oncología*, s. f.). Cuando esto sucede se denomina masa, crecimiento o lesión. Existen excepciones que incluyen algunos tipos de cáncer de sangre y médula ósea conocidos como leucemias y linfomas, estos con frecuencia no producen una masa, pero pueden ser detectados por otros métodos de evaluación. Además de presentar características neoplásicas malignas, entre ellas pleomorfismo, invasión, angiogénesis, e invasión local y/o distante (Roy & Saikia, 2016).

Dentro de los tipos de cáncer con mayor frecuencia en el mundo podemos encontrar al cáncer de pulmón, colorrectal, mama y próstata (**Fig. 1**).

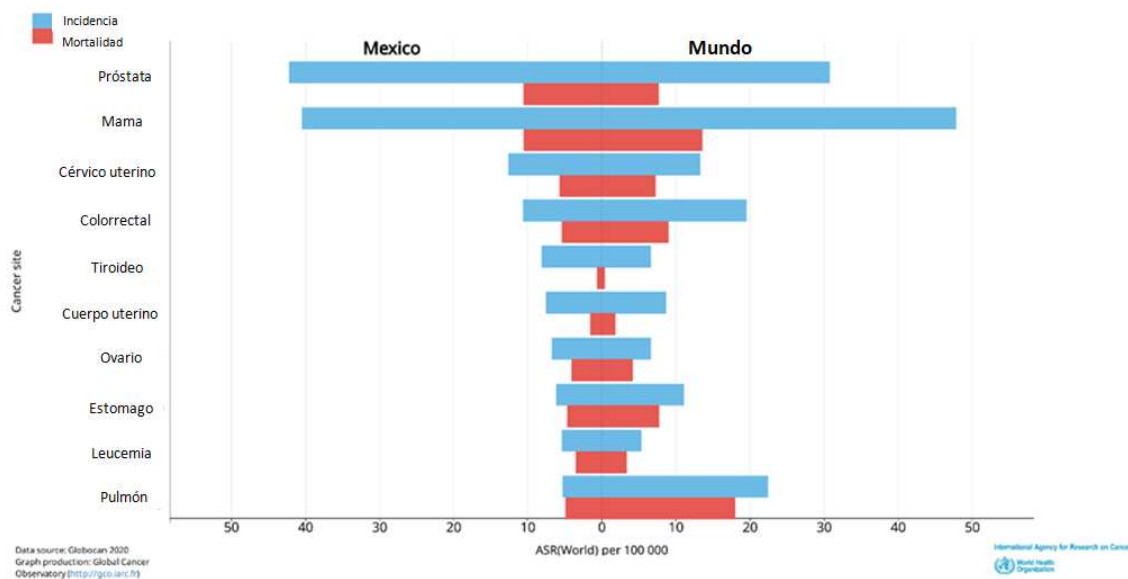
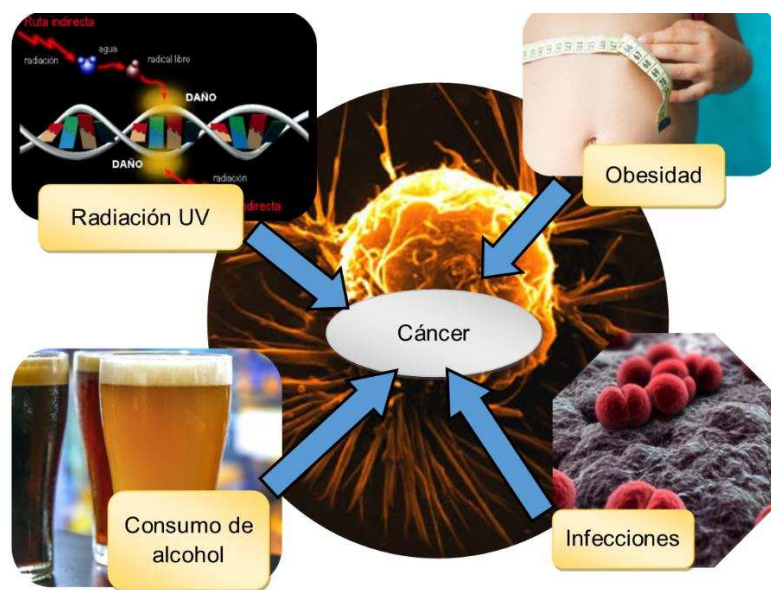


Figura 1. Tasa de incidencia y mortalidad de cáncer en México y el mundo para ambos sexos (*Cancer Today*, s. f.)

En el mundo, se estima que tan solo en el año 2020 se dieron un total de 19, 292, 789 casos nuevos de cáncer, los cuales son asociados a diversos factores que pueden llevar al desarrollo de la enfermedad. Entre estos factores destacan; el exceso de masa corporal, la exposición a agentes físicos como la radiación ultravioleta, agentes químicos como exposición a asbesto, humo de tabaco y alcohol, así como agentes biológicos como ciertos virus, bacterias y parásitos, pueden agravar el desarrollo de esta enfermedad (**Fig. 3**). (Cancer (IARC), s. f.)

Figura 2. Principales causas de cáncer listadas por el Global Cancer Observatory. Destaca la obesidad, radiación UV, consumo de alcohol y la generación de cáncer producto de infecciones bacterianas y/o virales (*Cancer Today*, s. f.).



El cáncer posee sellos característicos o 'hallmarks' bien definidos, reportados por Douglas Hanahan y Robert Weinberg (2000), describen seis hallmarks originales, que son: resistencia a la muerte celular, mantenimiento de la señalización proliferativa, evasión de los supresores de crecimiento, activación de mecanismos

de invasión, inmortalidad replicativa e inducción de angiogénesis (**Fig.2**) (de Souza et al., 2022; Hanahan & Weinberg, 2000, 2011).

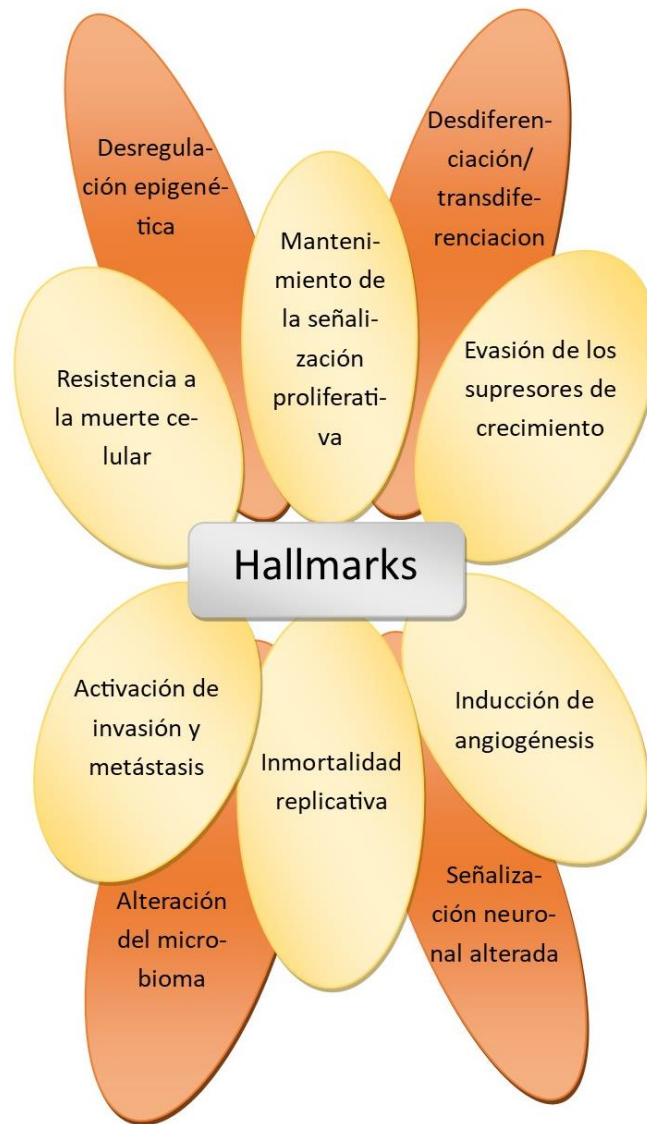


Figura 3. Representación de los 6 hallmarks propuestos por Hanahan & Weinberg en 2000 (amarillo) y los nuevos hallmarks propuestos en 2011 (naranja)

En 2011, los mismos autores (Hanahan & Weinberg, 2011) proponen cuatro nuevos hallmarks que son: reprogramación metabólica, evasión del sistema inmune, inflamación e inestabilidad genómica. En el 2022 se propone la adición de otros sellos del cáncer, que involucran el desbloqueo de la plasticidad fenotípica, la reprogramación epigenética, la alteración del microbioma y la senescencia celular (Hanahan, 2022; Hanahan & Weinberg, 2011). Recientemente, Hanahan y

otros autores, han sugerido una intersección de la señalización neural con los hallmarks del cáncer (Hanahan, 2022). Aun cuando se han identificado estas características generales para el cáncer, los procesos por los cuales se desarrolla siguen sin esclarecerse por completo. Una de las posibles causas del crecimiento anormal celular es debido a las mutaciones generadas por los errores cometidos durante la replicación del ADN. Estas mutaciones son heredadas a las nuevas células y abarcan desde una mala representación de las marcas epigenéticas hasta la pérdida o amplificación cromosómica, entre otros tipos de reordenamientos estructurales (Graham & Sottoriva, 2017).

Hallmarks del cáncer

Evasión de la apoptosis

La apoptosis, se puede describir como un mecanismo donde las células sufren de una muerte programada que no provoca inflamación, la diferencia de la necrosis es que en esta última la muerte celular ocurre como consecuencia de un trauma generando una respuesta inflamatoria (Xu et al., 2019). Este mecanismo juega un papel esencial en el desarrollo de los organismos, tejidos y la regulación homeostática del mismo, siendo alterado durante el desarrollo del cáncer, - provocando en células cancerígenas- pérdida de apoptosis y una proliferación anormal. (Mohammad et al., 2015).

El proceso de la apoptosis es controlado por dos vías moleculares denominadas como vía intrínseca y extrínseca. La intrínseca es aquella desencadenada por estímulos de muerte intracelular, producidos en su mayoría por daño en el ADN. En este proceso, la apoptosis se inicia tras cambiar el potencial de membrana, induciendo permeabilidad en la membrana mitocondrial. Este evento es seguido por la ruptura de la membrana y la liberación de proteínas proapoptóticas. Por otra parte, en la vía intrínseca el umbral apoptótico se queda establecido por las interacciones entre la membrana externa mitocondrial y las proteínas BCL-2 (Hinz & Lagares, 2020; Mohammad et al., 2015). **(Fig.4)**

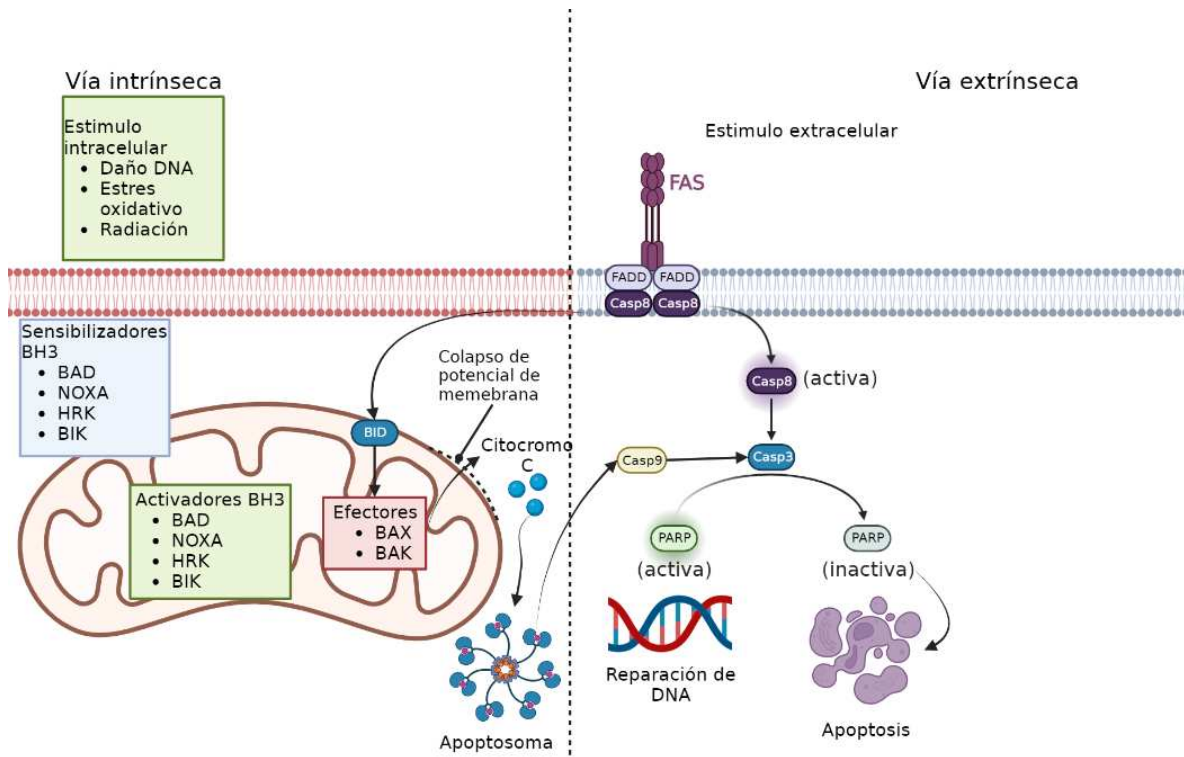


Figura 4. Esquema que representa las vías de apoptosis, la vía intrínseca desencadenada por estímulos de muerte intracelular, producidos en su mayoría por daño en el DNA y la vía extrínseca activada mediante la interacción de ligandos de muerte extracelular como lo puede ser el ligando FAS y TNF

La vía extrínseca es activada mediante la interacción de ligandos de muerte extracelular como lo puede ser el ligando FAS y TNF. En esta vía, la señal proapoptótica se transmite a través de una señalización multiproteica, en el que las proteínas, TNF receptor type 1-associated DEATH domain (TRADD), FAS-associated death domain (FADD) e IRE1-dependiente regulado decaimiento (RIDD) se ensamblan para activar la caspasa-8 y caspasa-10. Estas dos caspasas luego inician la apoptosis a través de la escisión y la activación de pro-caspasa-3 (Hinz & Lagares, 2020).

En condiciones normales, la apoptosis es una vía racional para eliminar células con algún tipo de problema o daño del organismo, sin embargo, en los tejidos tumorales se adquieren una resistencia a la apoptosis a través de estrategias variadas (**Fig. 5**), una de ellas son los cambios ocasionados por mutaciones en el

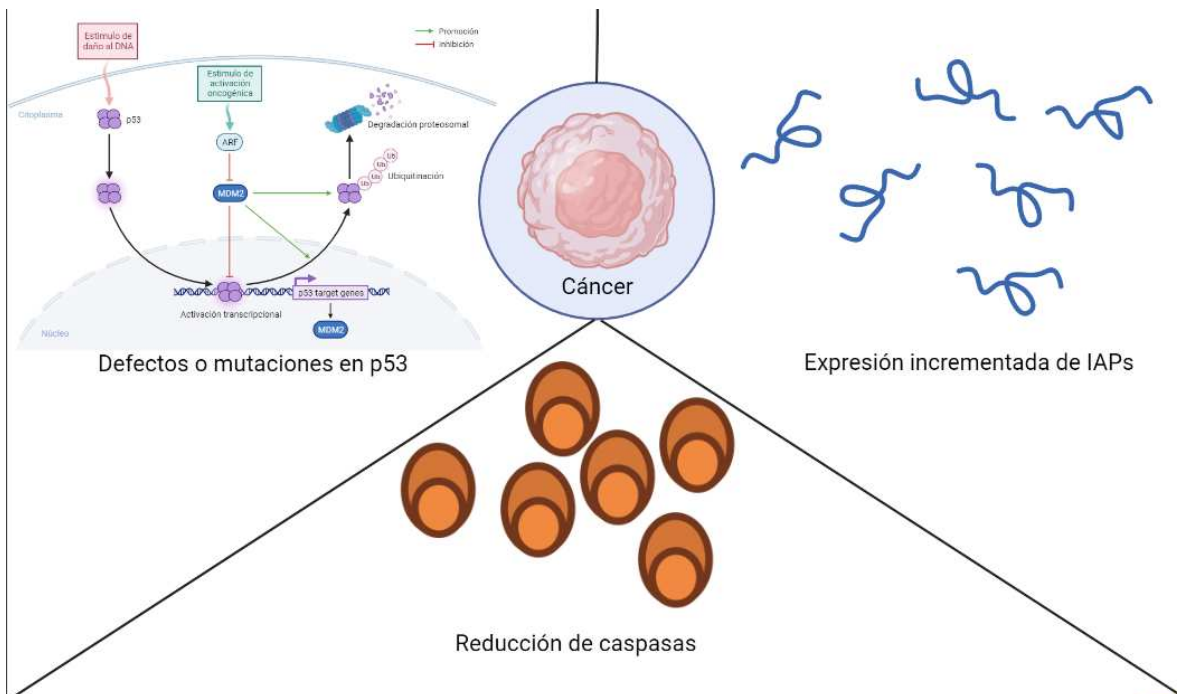
gen p53, el cual es un supresor de tumores, p53 es un promotor de la oxidación mitocondrial y se ha observado una inactivación funcional en más del 50% de los casos de cáncer en humano, esto nos da como resultado la eliminación de los sensores de daño al ADN que pueden iniciar los proceso de apoptosis (Hanahan & Weinberg, 2000; J. Lu et al., 2015)

Otra vía por la cual las células cancerosas pueden evadir el mecanismo de apoptosis, es por la expresión o función anómala de las proteínas inhibidoras de la apoptosis (IAP), encontrando 8 en humanos las cuales son XIAP, cIAP2, cIAP1, livin (ML-IAP), survivin, NAIP, ILP-2 y Bruce (Fulda & Vucic, 2012). Estas proteínas IAP tienen el dominio de repetición IAP , el cual media la interacción con las caspasas, estas proteínas pueden inhibir los proceso de apoptosis al unirse a las caspasas 3 y 7 en su forma activa y así prevenir la activación de la caspasa 9 (Fulda & Vucic, 2012, 2012).

Además, también se ha estudiado el papel que juega la proteína de choque térmico 90 (hsp90), la cual se encuentra de forma sobre expresada en células cancerosas en comparación con células no neoplásicas, hsp90 estabiliza varios factores antiapoptóticos como Akt, BRAF mutado, EGFR, JAK2 y el inhibidor de la proteína de apoptosis survivina. La mayoría de las funciones de hsp90 se relacionan con su presencia y función en el citosol, pero la evidencia reciente también sugiere que hsp90 se sobre expresa en las mitocondrias tumorales y organiza una red de acompañamiento mitocondrial que antagoniza la muerte de células tumorales (Mohammad et al., 2015).

Debido a estas características peculiares del cáncer, algunas terapias tienen como objetivo la activación de las vías apoptóticas, medicamentos como el bortezomib, Erbitux, Revlimid y Vectibix se enfocan en la señalización anti EGFR y la detención de la fase G1 para lograrlo (Dembic, 2020; Raudenská et al., 2021; Xu et al., 2019).

Figura 5. Vías de evasión de las apoptosis presentadas en condiciones de cáncer, dentro de las más estudiadas encontramos la supresión del gen p53, el incremento en las proteínas inhibidoras de la apoptosis (IAP) y la reducción de caspasas.



Potencial replicativo ilimitado

En células eucariotas, el potencial replicativo celular es limitado, esto como consecuencia del acortamiento de los telómeros, ocasionado por las características propias de la replicación del DNA, donde no es posible que las células obtengan una copia completa del final del DNA molde, debido a la forma en la que se sintetiza la cadena retrasada, la DNA polimerasa tiene restricciones para replicar el extremo 3' del ADN (**Fig. 6**) (Shay & Wright, 2000; Ye et al., 2019).

Esto explica que, en condiciones de laboratorio, las células normales en cultivo posean un potencial replicativo de carácter finito, al progresar a través de una cierta cantidad de duplicaciones, estas adquieren el fenotipo de senescencia, el cual se define por la detención del ciclo celular de forma permanente. (Hanahan & Weinberg, 2000; Hernandez-Segura et al., 2018).

Los telómeros son nucleoproteínas conservadas las cuales se localizan al final de los cromosomas, que comprenden una matriz en tándem de repeticiones TTAGGG y proteínas de unión al ADN. En humanos, consiste en repeticiones de TTAGGG con un extremo saliente en 3' que ayuda en la formación de estructuras de bucle en D y bucle en T. Cumplen una función protectora al evitar que se activen las vías de respuesta al daño del DNA (DDR), evitando, la pérdida de pares de bases del ADN cromosómico (Arsenis et al., 2017; Bernardes de Jesus & Blasco, 2013; Popli Deepika Bablani et al., s. f.).

Con cada replicación celular, se pierden entre 50 y 100 nucleótidos de ADN telomérico. Esta pérdida progresiva finalmente hace que los telómeros pierdan su capacidad de proteger los extremos del ADN cromosómico, activando la respuesta al daño del ADN, lo que lleva a la detención del crecimiento; senectud y dando como resultado la activación de la apoptosis (*The Hallmarks of Cancer*, s. f.).

Estos procesos fueron observados por Hayflick y Moorhead, los cuales notaron una capacidad replicativa limitada cuando demostraron que poblaciones enteras

de fibroblastos humanos en proceso de división celular y posterior replicación, alcanzaban un número limitado de replications antes de entrar en un estado senescente en lo que Hayflick llamó el fenómeno de fase III. Llamo Fase I al cultivo primario celular, Fase II al periodo comprendido de diez Meses de crecimiento Intensivo y fase III el período en que la replicación celular se ralentiza y finalmente se detenía (**Fig. 6**) (Shay & Wright, 2000).

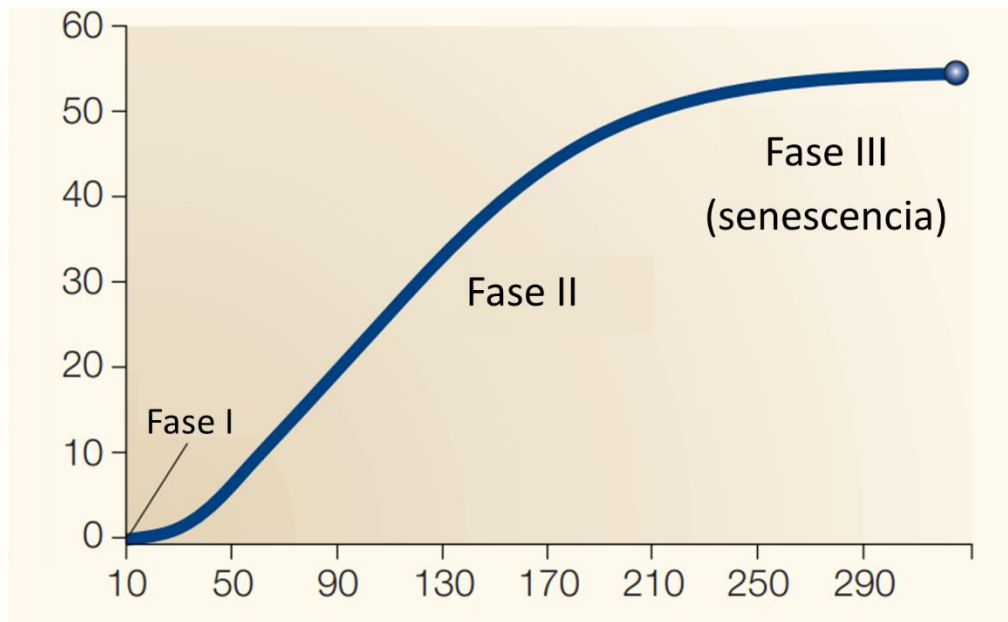


Figura 6. Fases del cultivo celular de Hayflick. La fase I es el cultivo primario; la fase II representa células subcultivadas durante el período de replicación exponencial. La fase III representa el período en que cesa la replicación celular, pero continúa el metabolismo. Las células pueden permanecer en este estado durante al menos un año antes de que ocurra la muerte.

En células tumorales reproducidas en cultivo se adquiere un fenotipo con potencial replicativo ilimitado, el cual es adquirido *in vivo* durante conforme la progresión de la enfermedad, probablemente siendo fundamental para el correcto desarrollo del tumor, es importante notar que el mantenimiento del ADN telomérico es la base de la capacidad para poseer un potencial replicativo ilimitado. Esta longitud y estructura de los telómeros es mantenida por la telomerasa transcriptasa inversa y

un complejo de telómero multiproteico denominado refugio (**Fig. 7**) (Bajaj et al., 2020; Hanahan & Weinberg, 2000; Kelland, 2007; Y. Wang et al., 2019; Ye et al., 2019).

La telomerasa es un heterodímero de la transcriptasa inversa. Consiste en una plantilla de ARN no codificante (componente de ARN de telomerasa, TERC) y una subunidad enzimática (transcriptasa inversa de telomerasa, TERT) para la síntesis *de novo* de secuencias de ADN telomérico. Regulación del mantenimiento de la longitud de los telómeros mediante la adición de repeticiones teloméricas a los extremos de los cromosomas utilizando plantillas de ARN (De Vitis et al., 2018).

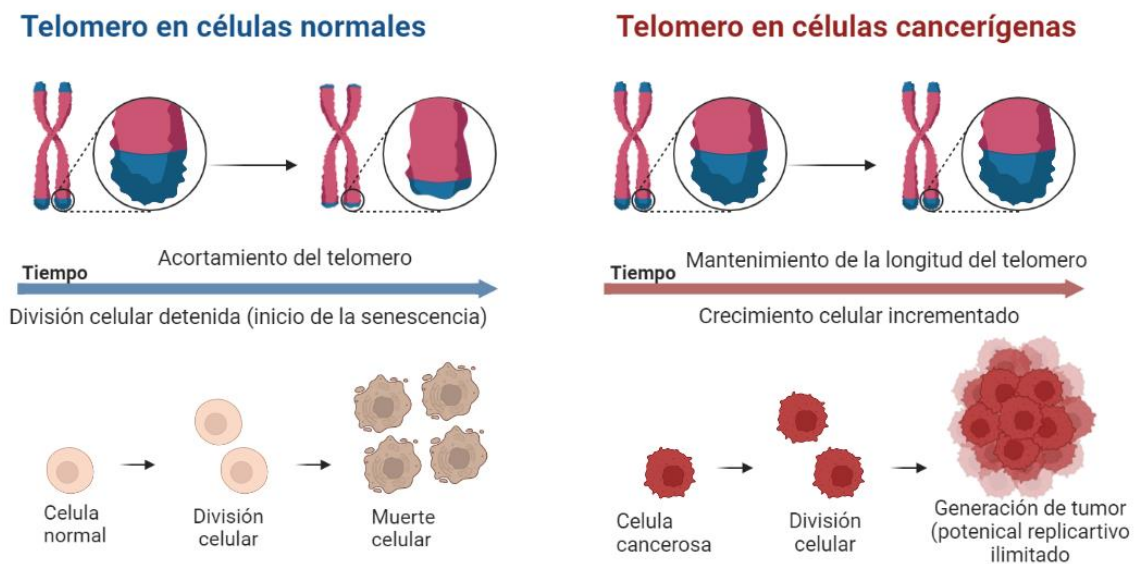


Figura 7. Mantenimiento del ADN de los telómeros (TMM) en células cancerígenas comparado con el mantenimiento y acortamiento de los telómeros en condiciones normales. El mantenimiento de los telómeros se ve asociado a una mayor actividad por parte de la telomerasa en células cancerígenas, ocasionado por la activación de oncogenes como Myc y Wnt.

Dentro de los mecanismos que pueden ayudar a tener una mayor activación de la telomerasa en pacientes con cáncer se encuentra la activación de oncogenes como Myc y Wnt los cuales son reguladores transcripcionales de la telomerasa

(Khattar & Tergaonkar, 2017; Zhou et al., 2014), así el aumento en la actividad de la telomerasa transcriptasa inversa, se observa como un potencial objetivo terapéutico para el tratamiento del cáncer (Arsenis et al., 2017; Kelland, 2007; Y. Wang et al., 2019).

Angiogénesis sostenida

La angiogénesis se define, como el crecimiento de vasos sanguíneos a partir de vasos sanguíneos existentes como medio de suministro de oxígeno y nutrientes, un proceso esencial para la función y supervivencia celular. (**Fig.8**) (Tonini et al., 2003).

Sin embargo, en las células tumorales, su rápido crecimiento requiere la creación de nuevos vasos sanguíneos para mantener la viabilidad del tumor; Esta capacidad parece adquirirse gradualmente durante el desarrollo del tumor. (Ramjiawan et al., 2017; Viallard & Larrivé, 2017).

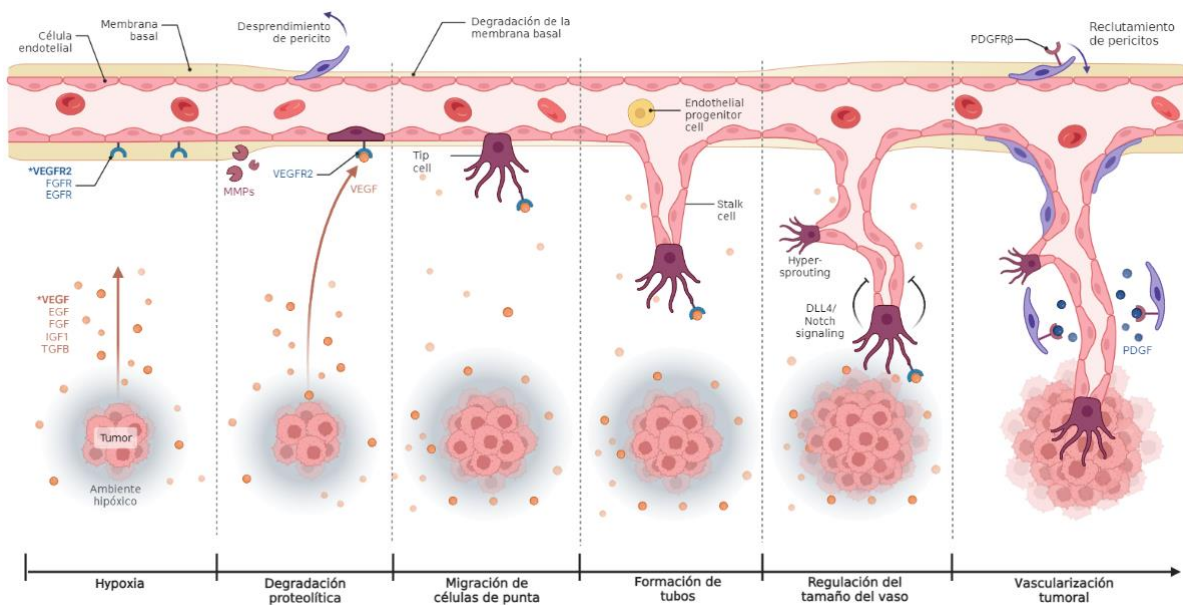


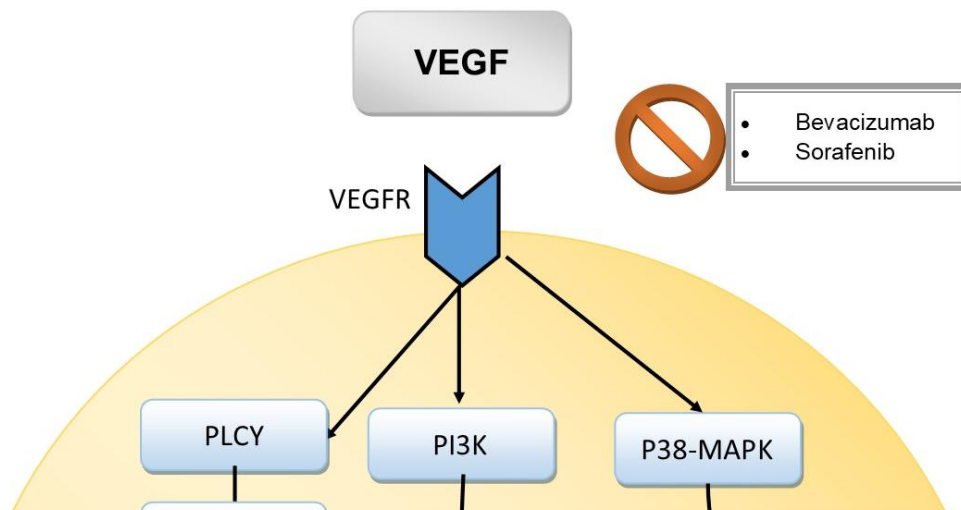
Figura 8. Proceso de vascularización tumoral, la generación de nuevos vasos sanguíneos es importante para el mantenimiento y sostén del crecimiento tumoral. Entre los moduladores se encuentran el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento transformante alfa, el factor de crecimiento epidérmico

A través de una extensa investigación, ha sido posible identificar diferentes tipos de reguladores de la angiogénesis tumoral. Entre los moduladores pro-angiogénicos se encuentran el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento transformante alfa, el factor de crecimiento epidérmico, etc. (T. Li et al., 2018).

VEGF, es una glicoproteína homodimérica que pesa 45 kDa. Es un mediador clave de la angiogénesis y se une a dos receptores, el receptor 1 de VEGF y el receptor 2 de VEGF, ambos expresados en las células endoteliales vasculares. En condiciones normales, VEGF promueve la angiogénesis durante el desarrollo embrionario y es importante para la cicatrización de heridas en adultos. VEGF es un mediador clave de la angiogénesis del cáncer, regulado por la expresión de oncogenes, factores de crecimiento y la presencia de hipoxia. (Carmeliet, 2005; Melincovici et al., 2018).

Debido a que este factor de crecimiento es un importante modulador para el proceso de angiogénesis, se convirtió en un target interesante para aplicaciones terapéuticas, buscando agentes que actúen como inhibidores bloqueando los receptores VEGF (**Fig. 9**), algunos fármacos usados en la actualidad como bloqueadores de estos receptores son Bevacizumab y Sorafenib (Melincovici et al., 2018; Raghav et al., 2021).

Figura 9. Vías de señalización del receptor VEGF. La unión de VEGF al dominio extracelular de VEGFR provoca la autofosforilación de residuos de tirosina y la activación de ciertas vías de señalización (Figura 1), como: fosfolipasa-C γ (PLC γ)/proteína quinasa C (PKC) y Ras/Raf/ERK /MAPK, estas vías de señalización están involucradas en la proliferación de células endoteliales. Además, por la activación de



Algunos otros factores como la inflamación, estrés metabólico, son considerados también como estímulos importantes para una señalización angiogénica y comenzar la tendencia a la formación del tumor (Kerbel, 2000; Mezu-Ndubuisi & Maheshwari, 2021)

Debido a la importancia de la angiogénesis en el mantenimiento del tumor, se ha estudiado como un objetivo terapéutico importante y atractivo para detener la progresión de la enfermedad, aunque no se debe subestimar la diversidad de mecanismos por los cuales las células tumorales evaden la terapia y perpetúan la enfermedad. La terapia antiangiogénica, puede no ser suficiente para detener su proliferación en diferentes tipos de cáncer (Hanahan & Weinberg, 2000, 2011).

Invasión de tejidos y metástasis

Un sello distintivo que se presenta a lo largo de diversos tipos de cáncer es el desarrollo de la capacidad para migrar e invadir otros tejidos, proceso al cual se le conoce como metástasis. Los tejidos tumorales generan células llamadas pioneras que se desplazan e invaden los tejidos adyacentes, donde los nutrientes y el espacio no son limitantes para el desarrollo de una nueva masa tumoral, el desarrollo de esta capacidad invasiva es la responsable del 90% de las muertes por cáncer en humanos (Hanahan & Weinberg, 2011; Sporn, 1996; Zeeshan & Mutahir, 2017).

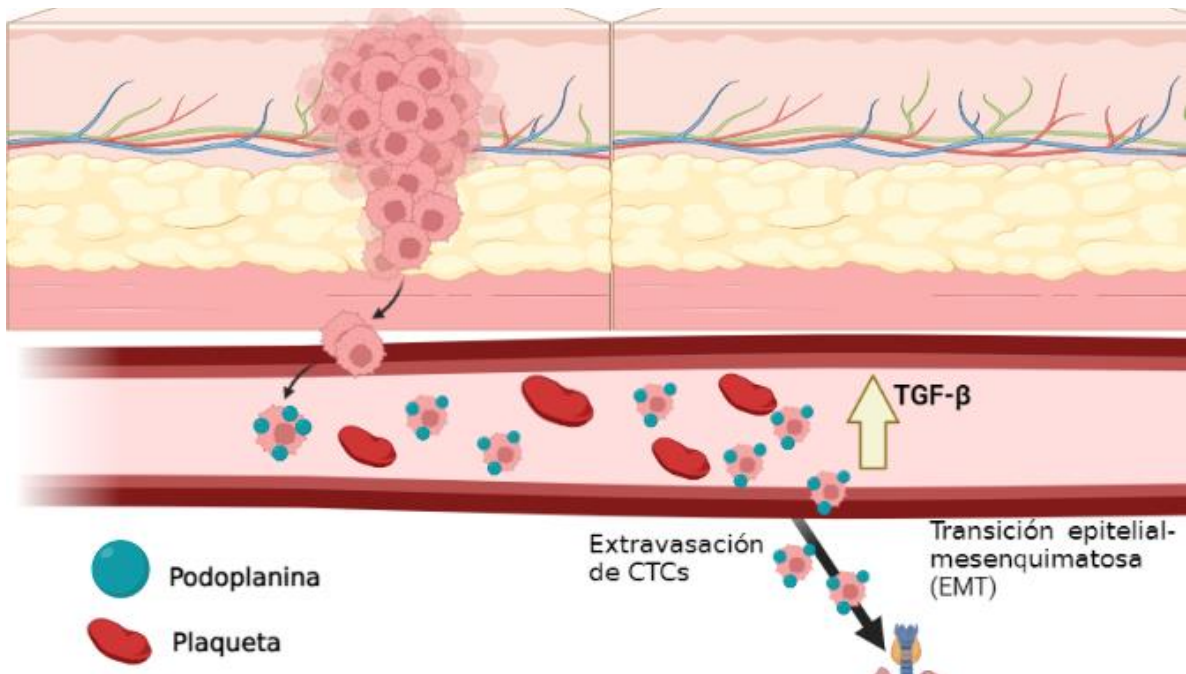
El proceso de la metástasis es dinámico y en el mismo se ve envuelta la interacción entre el tumor y los factores intrínsecos del paciente. Estas células cancerosas, deben sobrevivir las interacciones físicas en el ambiente del paciente, evadiendo la respuesta inmune para lograr proliferar, migrar y colonizar (Stoletov et al., 2020)

El desarrollo de esta capacidad está regulado por cambios en la expresión de la molécula de adhesión celular (CAM), aunque los mecanismos moleculares que

dirigen estos cambios siguen siendo difíciles de comprender y actualmente se ha observado que estos mismos mecanismos difieren según el entorno tisular (Hanahan & Weinberg, 2011; Suhail et al., 2019).

En particular se ha observado que la expresión de la podoplanina en la superficie de las células circulantes tumorales, ayuda en los procesos de evasión del sistema inmune, además de favorecer la expresión del factor de crecimiento transformante β (TGF- β) de las plaquetas agregadas, lo que activa el comportamiento invasivo por transición epitelial-mesenquimatosa (EMT) (**Fig. 10**) (Quintanilla et al., 2019)

Figura 10. Representación del proceso de metástasis en presencia de podoplanina en las células cancerosas. La podoplanina ayuda en proceso de evasión del sistema inmune favorecer la expresión del factor de crecimiento transformante β (TGF- β) de las plaquetas agregadas, lo que activa el comportamiento invasivo por transición epitelial-mesenquimatosa (EMT).



Debido a que este evento involucra una de las mayores complicaciones que pueden darse durante el desarrollo de la enfermedad, se han desarrollado diversos enfoques para el estudio de esta característica, que van desde la aplicación de RNAseq, seguimiento del linaje celular, modelaje de xenoinjertos derivados de pacientes, hasta el modelado de rutas de alto nivel por redes de Petri, estos permitirán comprender los mecanismos por los cuales se desencadena la metástasis en tejidos tumorales y de esta forma encontrar nuevos tipos de terapias dirigidas para tratar esta condición (Suhail et al., 2019; Zeeshan & Mutahir, 2017).

Desregulación epigenética

La desregulación epigenética es un 'hallmark' del cáncer que se refiere a la alteración en los patrones de metilación del ADN, la modificación de las histonas y la actividad de las enzimas que regulan estos procesos. Estas alteraciones epigenéticas pueden conducir a cambios en la expresión de genes clave para la proliferación celular, la diferenciación y la apoptosis, lo que promueve la formación de tumores (Feinberg, 2018; Hanahan & Weinberg, 2011).

La metilación anormal del ADN es una de las principales alteraciones epigenéticas que se observan en el cáncer. La hipometilación global del ADN puede activar la expresión de genes que normalmente están silenciados, mientras que la hipermetilación de los promotores de los genes supresores de tumores puede inactivar su expresión y promover la proliferación celular descontrolada (Feinberg, 2018).

Además, las modificaciones de las histonas también juegan un papel importante en la desregulación epigenética del cáncer. La acetilación de las histonas está asociada con una mayor accesibilidad del ADN a la maquinaria de transcripción.

Mientras que la metilación de las histonas, puede activar o reprimir la expresión génica dependiendo de la ubicación y el grado de metilación (Chi et al., 2010).

La metilación de histonas es una de las modificaciones más estudiadas y se ha demostrado que está asociada con la represión de genes supresores de tumores en diversos tipos de cáncer. En particular, la metilación de la histona H3 en la lisina 9 (H3K9me) y la histona H3 en la lisina 27 (H3K27me) son marcas epigenéticas que se asocian con la represión de genes supresores de tumores en diversos tipos de cáncer, de igual forma se ha demostrado que la acetilación de la histona H3 en la lisina 27 (H3K27ac) está asociada con la activación de genes oncogénicos en cáncer de próstata (Kim & Kim, 2009; C. Lu et al., 2012).

La desregulación epigenética también puede influir en la actividad de las enzimas que regulan estos procesos. La metilación del ADN y la acetilación de las histonas están controladas por enzimas llamadas DNA metiltransferasas (DNMTs) e histona acetiltransferasas (HATs), respectivamente. La sobreexpresión o la pérdida de estas enzimas pueden alterar la metilación y acetilación del ADN y las histonas, lo que puede promover la formación de tumores (Chi et al., 2010).

Por ejemplo, la hipermetilación de genes supresores de tumores, como el gen de la proteína p16INK4a, se asocia con la desactivación de la enzima de mantenimiento de metilación del ADN DNMT1 en células de cáncer de mama (Esteller, 2007; Jasek et al., 2019). Además, las mutaciones en genes que codifican para enzimas reguladoras de histonas, como IDH, se han relacionado con la alteración de la metilación de histonas y la pérdida de la diferenciación celular en gliomas malignos (C. Lu et al., 2012).

En resumen, la desregulación epigenética es un 'hallmark' del cáncer que se caracteriza por alteraciones en los patrones de metilación del ADN, la modificación de las histonas y la actividad de las enzimas que regulan estos procesos. Estas alteraciones, pueden influir en la expresión de genes clave para la proliferación

celular, la diferenciación y la apoptosis, lo que promueve la formación de tumores. La comprensión de los mecanismos subyacentes a la desregulación epigenética del cáncer puede ayudar a desarrollar nuevas estrategias terapéuticas para tratar esta enfermedad.

Microbioma alterado

El microbioma es la comunidad de microorganismos que habitan en un ambiente determinado, como el tracto gastrointestinal humano. La evidencia ha demostrado que la microbiota intestinal desempeña un papel importante en la regulación del sistema inmunológico y en la homeostasis del huésped. La desregulación del microbioma se ha relacionado con una variedad de enfermedades, incluido el cáncer. En el contexto del cáncer, la disbiosis- que es la alteración en la composición y función del microbioma-, se ha relacionado con la iniciación, la promoción y la progresión del cáncer (Gopalakrishnan et al., 2018).

La del microbioma se puede producir por diversos factores, como la dieta, el estilo de vida y los factores ambientales. Estudios recientes han demostrado que la alteración del microbioma puede ser un factor importante en el desarrollo de ciertos tipos de cáncer. Por ejemplo, se ha demostrado que la disbiosis intestinal se asocia con el cáncer colorrectal (Brennan & Garrett, 2016) y el cáncer de hígado (Yu et al., 2010).

Además, se ha demostrado que los microbios pueden producir metabolitos que influyen en el crecimiento y la supervivencia de las células cancerosas. Por ejemplo, algunos microorganismos producen ácidos grasos de cadena corta (SCFA), que pueden inhibir el crecimiento de células cancerosas al inducir la apoptosis o la muerte celular programada, influyendo en la respuesta del huésped a la terapia contra el cáncer. Estudios han demostrado que los pacientes con un

microbioma alterado pueden tener una respuesta menos efectiva a la inmunoterapia. Por lo tanto, el conocimiento y la manipulación del microbioma puede tener implicaciones terapéuticas significativas en la prevención y el tratamiento del cáncer (Gopalakrishnan et al., 2018).

La alteración del microbioma puede desempeñar un papel importante en la iniciación, la promoción y la progresión del cáncer, así como en la respuesta del huésped a la terapia contra el cáncer. El conocimiento y la manipulación del microbioma pueden tener implicaciones terapéuticas significativas en la prevención y el tratamiento del cáncer.

Diferenciación y transdiferenciación

Este es uno de los nuevos hallmarks propuestos de manera reciente (Senga & Grose, 2021) la anaplasia y transdiferenciación se refiere a la capacidad de las células cancerosas para alterar su identidad celular y convertirse en diferentes tipos celulares. Este proceso implica la pérdida de la expresión de genes de diferenciación y la adquisición de características propias de células madre (Hanahan & Weinberg, 2011).

La dediferenciación se produce cuando las células cancerosas pierden su estado maduro y se vuelven menos especializadas, lo que les permite proliferar y migrar con mayor facilidad. Esto ocurre a través de la reactivación de programas de desarrollo embrionario y la pérdida de la expresión de marcadores de diferenciación celular (Gupta et al., 2009).

Por ejemplo, se ha demostrado que la activación del programa de desarrollo embrionario llamado "epitelio-mesénquima de transición" (EMT) es un proceso importante en la adquisición de propiedades invasivas y metastásicas por parte de las células tumorales. Durante la EMT, las células tumorales pierden su polaridad celular y su adhesión intercelular, lo que les permite disociarse de los tumores primarios y migrar a través del cuerpo hacia otros sitios (Thiery, 2002).

La pérdida de la expresión de marcadores de diferenciación celular también es un proceso común en la desdiferenciación del cáncer. Los marcadores de diferenciación celular son proteínas o moléculas que están presentes en las células maduras y especializadas, y que les permiten realizar sus funciones específicas. En las células tumorales, la pérdida de la expresión de estos marcadores está asociada con una mayor agresividad y capacidad de invasión (Nguyen et al., 2009).

Un ejemplo de la pérdida de la expresión de marcadores de diferenciación celular en el cáncer es la disminución de la expresión de la proteína E-cadherina, que es una molécula de adhesión celular importante en el epitelio. La pérdida de E-cadherina se asocia con la disociación de las células tumorales y la progresión de la enfermedad (Thiery et al., 2009).

En resumen, la reactivación de programas de desarrollo embrionario y la pérdida de la expresión de marcadores de diferenciación celular son procesos importantes en la desdiferenciación del cáncer. Estos procesos permiten a las células tumorales adquirir propiedades invasivas y metastásicas, lo que contribuye a la progresión de la enfermedad.

Por otro lado, la transdiferenciación se refiere a la capacidad de las células cancerosas para cambiar su identidad celular y convertirse en un tipo celular diferente al que normalmente pertenecen. Esto se debe a la activación de procesos de reprogramación celular que les permiten adquirir características de otros tipos celulares (Brabletz et al., 2018).

Una de las vías más conocidas de reprogramación celular, es la que está involucrada en la generación de células madre pluripotentes inducidas (iPS), que son capaces de dar lugar a células de diferentes tipos. En el cáncer, se ha observado que las células tumorales pueden activar procesos de reprogramación

similares para adquirir características de otros tipos celulares (Senga & Grose, 2021).

Se ha reportado, que las células de cáncer de pulmón pueden transdiferenciarse en células que se parecen a las células del tejido glandular del pulmón, lo que les permite evadir la quimioterapia. Los autores del estudio identificaron una proteína llamada SOX2 que está involucrada en la transdiferenciación de las células de cáncer de pulmón, y que podría ser un objetivo para el desarrollo de nuevas terapias contra el cáncer (Hou et al., 2017).

La transdiferenciación en el cáncer se ha reportado en células de cáncer de mama, las cuales pueden transdiferenciarse en células que se parecen a las células de cáncer de próstata. Los autores del estudio encontraron que esta transdiferenciación está mediada por una proteína llamada SLUG, que actúa como un interruptor molecular que activa los programas de desarrollo de la próstata en las células de cáncer de mama (Ebina & Rossi, 2015).

La desdiferenciación y la transdiferenciación son procesos complejos que involucran la regulación de múltiples vías de señalización y la interacción con el microambiente tumoral. Estos procesos pueden contribuir a la heterogeneidad tumoral y a la resistencia a la terapia, lo que hace que sean importantes objetivos terapéuticos para el tratamiento del cáncer (Hanahan & Weinberg, 2000).

En conclusión, la capacidad de las células cancerosas para desdiferenciarse y transdiferenciarse es un 'hallmark' del cáncer que contribuye a la heterogeneidad tumoral y a la resistencia a la terapia. La comprensión de los mecanismos involucrados en estos procesos puede ayudar en el desarrollo de nuevas terapias dirigidas contra el cáncer.

Señalización neuronal alterada

El cáncer no solo involucra cambios genéticos y epigenéticos, sino también alteraciones en la comunicación celular y la señalización neuronal. La señalización neuronal alterada en el cáncer es un hallmark emergente que se ha relacionado con la progresión tumoral, la resistencia a la terapia y la formación de metástasis (Keough & Monje, 2022).

La señalización neuronal se produce a través de la liberación de neurotransmisores y neuropéptidos, que interactúan con los receptores en las células diana. En el contexto del cáncer, tanto las células cancerosas como las células del microambiente tumoral, como las células inmunes, los fibroblastos y las células endoteliales, pueden ser responsables de la señalización neuronal alterada. Esta puede provocar cambios en la expresión génica, la proliferación celular, la angiogénesis y la migración celular, lo que puede afectar la progresión del cáncer. Por ejemplo, se ha demostrado que los nervios simpáticos y parasimpáticos pueden estimular la angiogénesis y la proliferación celular en tumores de próstata y de mama (Magnon et al., 2013).

Además, se ha demostrado que la señalización neuronal alterada puede contribuir a la resistencia a la terapia en el cáncer. La estimulación de los nervios simpáticos puede reducir la respuesta de las células cancerosas a la quimioterapia y la radioterapia, y también puede aumentar la resistencia a la inmunoterapia (Saloman et al., 2016).

Se ha demostrado que la activación de la vía de señalización del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y su receptor, TrkB, está asociada con la resistencia a la terapia en varios tipos de cáncer, incluyendo el cáncer de mama, el cáncer de próstata y el cáncer de pulmón (Gritsko et al., 2006; Okamura et al., 2012).

Además, la señalización neuronal puede contribuir a la resistencia a la quimioterapia en el cáncer de páncreas. En este tipo de cáncer, la activación de la vía de señalización del receptor del factor liberador de corticotropina (CRF) se ha asociado con la resistencia a la quimioterapia (Kasckow et al., 2003).

La señalización neuronal alterada es un 'hallmark' emergente del cáncer que puede contribuir a la progresión tumoral y la resistencia a la terapia. Los estudios futuros en esta área podrían proporcionar nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento del cáncer.

[Evasión inmunológica y resistencia a los fármacos](#)

La terapia contra el cáncer, opera en un sistema definido por una terapia dirigida a una población celular cancerosa dentro de un entorno particular del anfitrión. En muchas ocasiones, estas terapias encuentran una problemática al presentarse una resistencia a los fármacos de origen multifacético. La resistencia a los medicamentos es una de las principales causas del fracaso del tratamiento, y la resistencia a múltiples medicamentos (MDR) tiene varios mecanismos (**Fig. 11**) que causan resistencia a la quimioterapia, reducen la absorción del medicamento y aumentan el tiempo que el medicamento sale de la célula. (Gottesman, 2002; Holohan et al., 2013; Vasan et al., 2019).

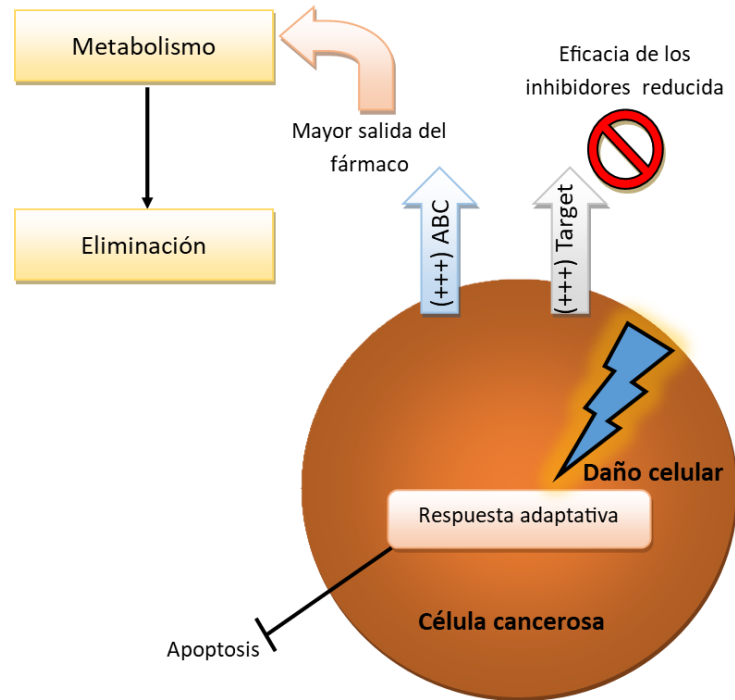


Figura 11. Esquema generalizado de algunos mecanismos de resistencia a los fármacos, los signos positivos (+++) indican un incremento de atp-binding cassette (ABC) o grupos objetivos en la célula cancerosa.

Otra vía de resistencia surge de mutaciones en dianas de fármacos, como el receptor de andrógenos (AR), que se regulan al alza durante el desarrollo del cáncer de próstata, donde, como en otros casos, el aumento de la expresión de la diana reduce su efecto inhibitorio. Se requiere una gran cantidad de medicamento para inhibirlos y producir un efecto terapéutico, pero esto no siempre es posible debido a los efectos secundarios que pueden ocurrir debido al aumento de las dosis de medicamentos, efectos farmacocinéticos como la absorción, distribución, metabolismo y eliminación (ADME), que limitan la cantidad de fármaco que llega al tumor (Holohan et al., 2013; Vasan et al., 2019).

Además de los MDR presentados por las células cancerosas, estas tienen mecanismos para evadir al sistema inmune, un ejemplo de esto es la expresión de la podoplanina (**Fig. 10**), que ayuda a las CTCs a no ser reconocidas por el sistema inmune (Mir Seyed Nazari et al., 2018; Suzuki-Inoue, 2019). Además de iniciarse un proceso denominado edición inmunológica, durante este proceso el sistema inmune es quien promueve el desarrollo del tumor (O'Donnell et al., 2019). La edición inmunológica es el resultado de tres etapas: eliminación, equilibrio y escape (Dunn et al., 2002; Schreiber et al., 2011).

El proceso de eliminación es la etapa en la que el sistema inmunitario es capaz de eliminar las células cancerosas. Esto sucede durante el inicio de la enfermedad. A medida que crece un tumor, debe nutrirse a través de los vasos sanguíneos creados por la angiogénesis. Este crecimiento de tejido invasivo causa inflamación, lo que activa el sistema inmunitario innato. Reclutamiento de células como NK, NKT, células $\gamma\delta$ T, etc. Esto ayuda a las células infiltrantes a reconocer el daño y producir IFN- γ para suprimir el crecimiento tumoral. (Castro et al., 2018; Gao et al., 2018).

En la siguiente fase, que corresponde al llamado estado estacionario o de equilibrio, el sistema inmunitario del huésped y las variantes de células tumorales que sobrevivieron a la fase de eliminación entran en la fase de homeostasis. Durante este proceso, los linfocitos y el IFN- γ ejercen una presión selectiva constante sobre las células tumorales en un intento de limitar, pero no eliminar por completo, la población tumoral. Esto da como resultado una población tumoral genéticamente inestable y que muta rápidamente. Además, este proceso proporciona una mayor resistencia al ataque del sistema inmunitario, por lo que el equilibrio es probablemente la más larga de las tres funciones y puede darse a lo largo de muchos años (Dunn et al., 2002; O'Donnell et al., 2019; Schreiber et al., 2011).

Durante la última fase que corresponde al escape, las células sobrevivientes que ya han adquirido resistencia y son insensibles a la detección inmunológica comienzan a proliferar nuevamente sin control. Se ha propuesto que este fenotipo mutante, que confiere resistencia inmunológica sea resultado de tres instabilidades genéticas: inestabilidad de reparación la escisión de nucleótidos, inestabilidad en microsatélites e inestabilidad cromosomal (Dunn et al., 2004). Finalmente como resultado de estos tres procesos la enfermedad se vuelve resistente a diversos tratamientos, dificultando así su manejo.

Cáncer de próstata

En México el cáncer de próstata posee la tasa de incidencia y mortalidad más alta (**Fig. 12**), con una cifra cercana a 10 millones de muertes durante el 2020 y una tasa de mortalidad de uno por cada seis casos. Si bien, en el caso del cáncer de próstata la tasa de mortalidad se ha visto en declive durante los últimos años en países con un manejo adecuado de la prevención y tratamiento, aún existen diferencias substanciales en la mortalidad de la misma enfermedad entre diferentes países alrededor del mundo (Cancer (IARC), s. f.; Santucci et al., 2020).

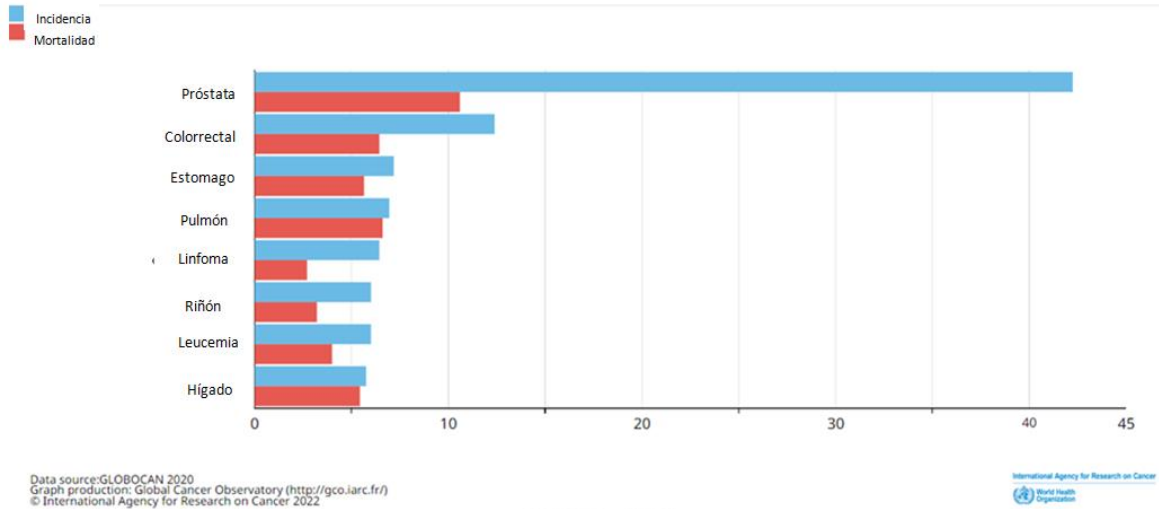


Figura 12. Tasa de incidencia y mortalidad por cáncer estimada en hombres durante el 2020 para México

La progresión del cáncer de próstata se ha visto bien caracterizada, y en los últimos años las etapas en las que se clasifica el desarrollo de la enfermedad se han redefinido en función de los nuevos conocimientos adquiridos sobre el cáncer de próstata. Se utilizan cinco etapas para evaluar la extensión del cáncer en las que 0 se refiere a la ausencia de cáncer, mientras que las etapas I a IV describen la extensión de la progresión del cáncer (Chang et al., 2014; De et al., 2018; Schatten, 2018).

- Estadio I describe el cáncer confinado a la próstata
- El estadio II describe un tumor de próstata que aún es pequeño y no se ha diseminado más allá de la próstata, pero las células son más anormales que las que se encuentran en el estadio I y el cáncer no se ha diseminado a los ganglios linfáticos o a los ganglios linfáticos en órganos distantes.
- El estadio III significa que el cáncer se ha propagado más allá de la capa externa de la próstata y se puede detectar en los tejidos cercanos y en las vesículas seminales.

- El estadio IV describe tumores que se han propagado a otras partes del cuerpo, especialmente para la vejiga, el recto, huesos, hígado, pulmones y ganglios linfáticos.

El desarrollo y crecimiento del tumor (**Fig. 13**) se encuentra controlado por la presencia de la testosterona y la 5 α -dihidrotestosterona (DHT), ejerciendo su efecto biológico a través de los receptores de andrógenos. Al unirse al ligando, el receptor se disocia de las proteínas accesorias, se traslada al núcleo, se dimeriza y luego se une al elemento de respuesta androgénica (ARE) ubicado en las regiones promotoras de los genes involucrados en la proliferación celular y la evasión de la apoptosis (Feng & He, 2019)

La terapia de privación de andrógenos (TDA) es el pilar del tratamiento del cáncer de próstata, cuyo objetivo es reducir los niveles de testosterona circulante a niveles de castración (50 ng/dL), ya que la presencia de testosterona afecta directamente.

capacidad de crecimiento tumoral (Mansinho et al., 2018), al reducir los niveles de testosterona circulante se observa una regresión del tumor (Castillejos-Molina & Gabilondo-Navarro, 2016; Feng & He, 2019; Komura et al., 2018).

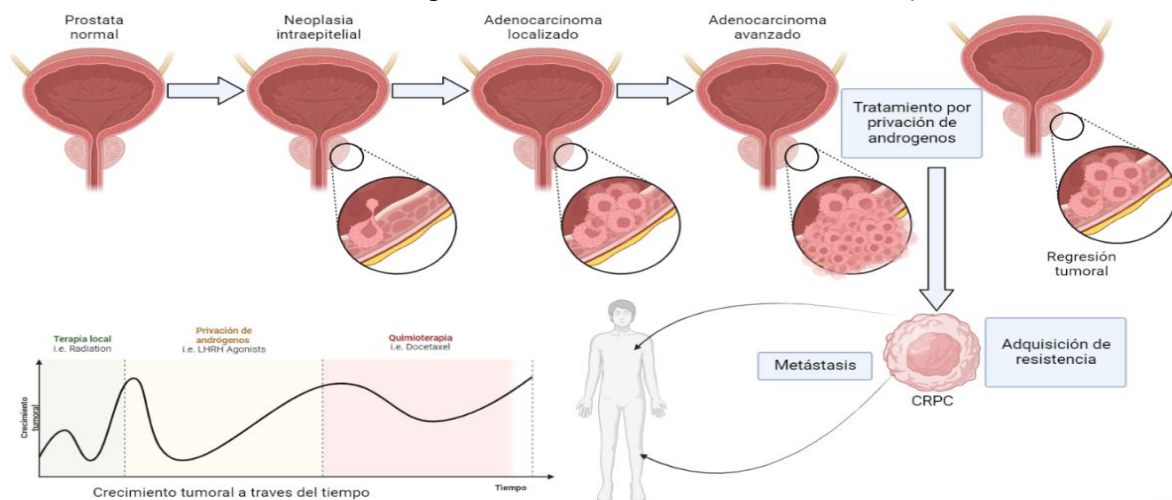


Figura 13. Progresión del cáncer de próstata desde la neoplasia intraepitelial hasta la presencia de un adenocarcinoma avanzado que puede resultar en CRPC.

Este tipo de tratamientos que involucran la privación de andrógenos reportan la regresión en el 80 % de los hombres con cáncer de próstata, con una mediana de supervivencia libre de progresión de un año aproximadamente (Hellerstedt & Pienta, 2002).

Sin embargo, la reincidencia del crecimiento tumoral cancerígeno es frecuente en pacientes que han sido tratados con ADT, este tipo de cáncer se caracteriza por la resistencia a la castración, que se presenta en una etapa tardía y se conoce como cáncer de próstata resistente a la castración (CPRC). En esta etapa avanzada, los tumores pueden desarrollarse después de la terapia de privación de andrógenos física o química, independientemente de los niveles de testosterona bajos o ausentes. (Kirby et al., 2011)

Las clasificaciones más utilizadas clínicamente del cáncer de próstata resistente a la castración se centran en la activación del receptor, entre ellas:

- Cambios en el nivel de ligandos en tejido tumoral.
- Aumento de los niveles de proteína debido a la amplificación de genes o expresión alterada de ARNm.
- Activación de mutaciones del receptor que afectan la estructura y la función.
- Cambios en moléculas co-reguladoras, incluyendo co-activadores y co-represores.
- Factores que controlan la activación del receptor independientemente de los niveles de ligando o receptor, lo que permite la interacción cruzada de cinasas.

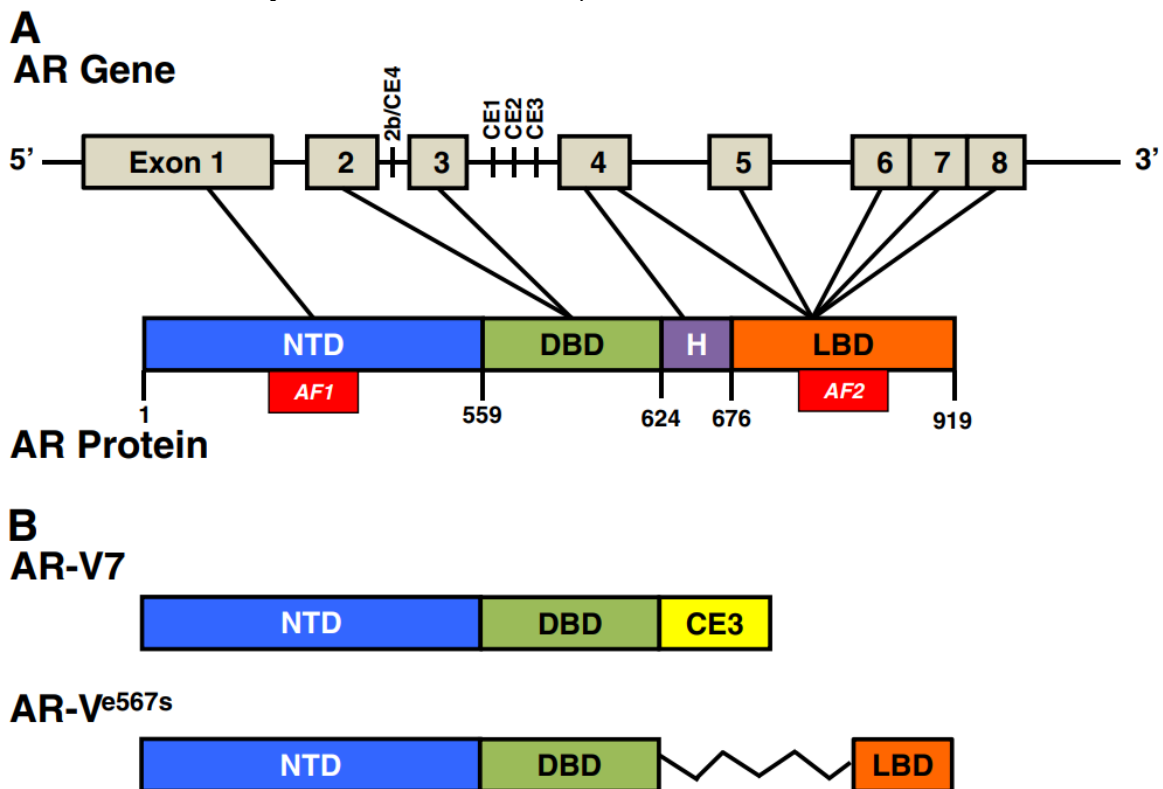
Los mecanismos por los cuales se transita de un fenotipo sensible a andrógenos a uno que es insensible a ellos han sido motivo de estudio, encontrando que las mutaciones del receptor de andrógeno y las alteraciones en las cascadas de señalización de andrógenos son responsables del crecimiento de los tumores en condiciones de ausencia de andrógenos (Nevodoms kaya et al., 2018; Pienta & Smith, 2005). Los pacientes en los que se genera este tipo de cáncer resistente a

la castración suelen morir pasados los primeros dos a cuatro años de diagnóstico de la misma (Patrikidou et al., 2014).

Estructura y función del receptor de andrógenos (AR)

Como se ha visto, la vía de señalización de andrógenos juega un papel decisivo en la patogénesis del cáncer de próstata. Con las observaciones realizadas por Huggins y Hodges donde determinan que existe una regresión del tumor como consecuencia de la reducción de los andrógenos gonadales, esta vía cobra relevancia como un pilar en la terapia de la enfermedad (Dai et al., 2017; Huggins & Hodges, 2002)

El receptor de andrógenos contiene tres dominios: un dominio N-terminal con un número variable de repeticiones de poliglutamina y poliglicina, un dominio de unión a ADN bien conservado (DBD por sus siglas en inglés) el cual consiste en dos dedos de zinc que reconoce secuencias de ADN específicas, y un dominio de unión a ligando (LBD) (**Fig. 14**). Estos dos últimos dominios están separados por un dominio bisagra que alberga una señal de localización nuclear. Las unidades de transactivación Tau-1 y -5 ubicadas en el dominio N-terminal son los principales determinantes de la actividad transcripcional de receptor de andrógenos (Culig & Santer, 2014; Davey & Grossmann, 2016).



(Extraído de Shafi et al., 2013)

La forma inactiva del receptor de andrógenos reside principalmente en el citoplasma, donde es estabilizada por proteínas chaperonas (Haendler, 2002). Cuando es activado por andrógenos, más comúnmente testosterona o el metabolito más potente 5α -dihidrotestosterona (DHT), el receptor de andrógenos sufre una modificación alostérica, se homodimeriza y luego se traslada al núcleo donde se une al ADN en los sitios de unión al receptor de andrógenos (ARBS). Una vez unido a los elementos potenciadores reguladores en cis (CRE), se reclutan correguladores, complejos de remodelación y otros TF para crear un centro transcripcional que inicia un proceso transcripcional dependiente de receptor de andrógenos que afecta la expresión de varios cientos de genes diana (Scher & Sawyers, 2005). Estos genes promueven la proliferación, diferenciación celular y, metástasis.

En 2010, se descubrió una nueva variante de empalme del receptor de andrógenos humano denominada ARv567es en la que los exones 5, 6 y 7 se eliminaron, demostrando que esta variante puede contribuir a la progresión del cáncer de próstata humano (Sun et al., 2010).

El ARN mensajero de la variante de empalme del receptor de andrógenos 7 (AR-V7) se detecta con mayor regularidad en células tumorales circulantes de pacientes en estados avanzados de la enfermedad y se le asocia con la resistencia a los fármacos como la enzalutamida o abiraterona (Antonarakis et al., 2014; Sobhani et al., 2021). ARV-7 favorece la expresión de genes que regulan el ciclo celular, mientras que el receptor de andrógenos intacto lo suprime a favor de genes relacionados con el metabolismo, la diferenciación y la síntesis macromolecular. Además, esta variante de receptor de andrógenos es constitutivamente activa y puede promover la señalización del receptor de

andrógenos sin interacción con el ligando (**Fig. 15**). Por lo que se ha vuelto un objeto de estudio importante (Sobhani et al., 2021).

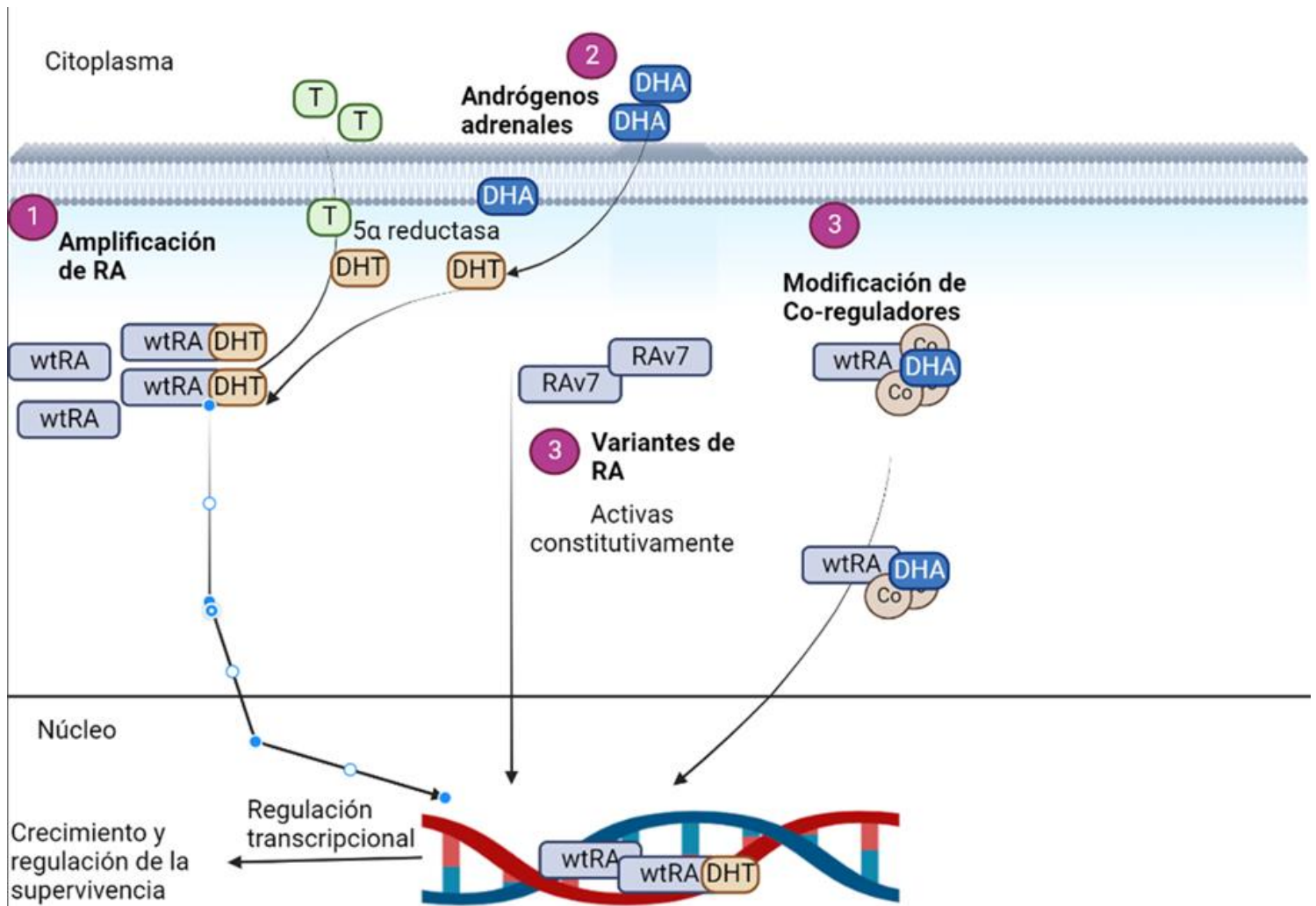


Figura 15. Vías de señalización del receptor de andrógenos de forma dependiente e independiente de ligandos, dentro de las vías identificadas dependientes de ligando encontramos la promiscuidad, la amplificación y la generación de variantes del receptor, mientras que las vías independientes de ligando contemplan la modificación de los co-reguladores y procesos de activación aberrantes. Extraído de Chandrasekar et al., 2015

Detección y tratamiento del cáncer de próstata.

El cáncer de próstata es uno de los diagnósticos de cáncer más comunes en los hombres (Teo et al., 2019), la detección del cáncer tiene como objetivo encontrar una lesión preneoplásica en una etapa temprana para mejorar la supervivencia de los pacientes (*Detección del cáncer | Cancer.Net*, s. f.). Desde la introducción de las pruebas para detectar diferentes tipos de cáncer, como el cáncer de mama y de próstata, ha habido un aumento en la incidencia de carcinoma in situ y cáncer en etapa temprana. Para el cáncer de próstata específico, la prueba de detección consiste en buscar un aumento en el antígeno prostático específico (PSA).(Srivastava et al., 2019).

Cuando se es detectado el cáncer la estrategia a seguir para detener el crecimiento anormal celular puede conllevar la remoción quirúrgica de la masa cancerosa (Fig. 15), el uso de quimioterapia u otro tipo de medicamento que ayude a reducir la población celular cancerosa y el uso de radioterapia. En algunos casos considerados como raros se llega a observar una regresión sin necesidad de tratamiento alguno (Coussens & Werb, 2002).

Para los pacientes con cáncer de próstata donde el tumor se encuentra localizado, se realiza la remoción del tejido canceroso por prostatectomía radical, este procedimiento suele acompañarse con alguna terapia de para reducir los niveles de andrógenos (Gamat & McNeel, 2017). Estas terapias pueden intentar reducir los niveles de andrógenos en suero mediante la extirpación de uno o ambos testículos (lo que se denomina orquiectomía) o el uso de agonistas de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH) (con o sin bloqueo). Receptores de andrógenos como bicalutamida, flutamida, nilutamida (Dole & Holdsworth, 1997; Gamat & McNeel, 2017; Gingu et al., 2020).

Aunque las terapias ADT suelen tener una buena eficacia en etapas tempranas, como se ha mencionado con anterioridad la mayoría de los pacientes eventualmente tienden a desarrollar CPRC (Chandrasekar et al., 2015). Durante esta etapa es común que se mantenga la terapia de ADT junto con otro tipo de tratamiento como quimioterapia o el uso de medicamentos como el docetaxel (**fig. 16**) (Teo et al., 2019).

La administración de medicamentos que son inhibidores de los microtúbulos muestran un beneficio de supervivencia en el CPRC (Barata & Sartor, 2019; Sydes et al., 2018; Tannock et al., 2004).

A pesar del progreso en la búsqueda de nuevos tratamientos para esta forma avanzada de cáncer de próstata, los esfuerzos para encontrar nuevos tratamientos siguen siendo un desafío, ya que la mayoría de los pacientes finalmente mueren a causa de la enfermedad. Por lo cual se busca fortalecer los tratamientos existentes y mejorar los resultados clínicos.(Barata & Sartor, 2019)

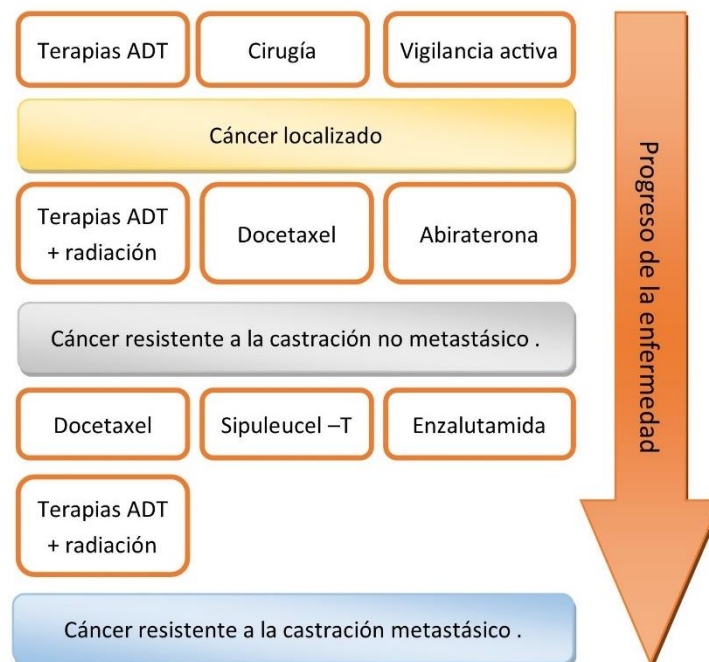


Figura 16. Tratamiento del cáncer de próstata a lo largo del progreso de la enfermedad, los tratamientos iniciales suelen basarse en la vigilancia activa del paciente o remoción del tejido canceroso, a lo largo de la progresión de la enfermedad se incluyen en el tratamiento terapias de radiación y ADT entre otras

Chalconas

La chalcona es un metabolito secundario de la familia de los flavonoides y abunda en muchas plantas comestibles como las frutas. (Rudrapal et al., 2021; Zhuang et al., 2017).

Estas chalconas presentan una estructura química característica 1,3-diaril-2-propen-1-ona (**Fig. 17**), la cual es conocida como chalconoide, estructuralmente se han definido como anillo A al anillo de fenilo unido al grupo carbonilo y hacen referencia al anillo de benceno como anillo B (Zhuang et al., 2017)

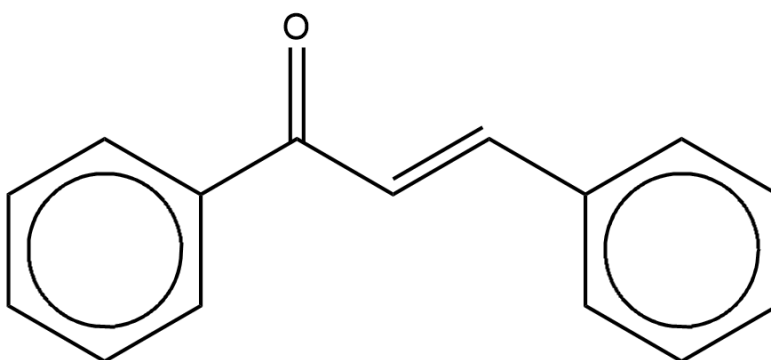


Figura 17. Estructura de una chalcona 1,3-diaril-2-propen-1-ona

Estas chalconas tienen una amplia gama de actividades biológicas, que incluyen antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas y antimicrobianas. (Chen et al., 2013; Henry et al., 2020; Okolo et al., 2021; Ouyang et al., 2021), estas propiedades han puesto a las chalconas como un grupo prometedor en la búsqueda de nuevos fármacos hacia enfermedades neurodegenerativas, de los cuales sobresalen los estudios enfocados en la enfermedad de Alzheimer (Halliday et al., 2017; Kamecki et al., 2021; Thapa et al., 2021; X. Zhang et al., 2018). También las chalconas se han usado en pruebas *in vitro* contra patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Trichomonas vaginalis* (Openda et al., 2022; Trein et al., 2019) en donde se han escrito su citotoxicidad y diversas actividades biológicas frente a los mismos, sin embargo, los mecanismos de acción que siguen aún no se encuentran bien caracterizados (Zhuang et al., 2017).

Como se mencionó previamente, las chalconas por su estructura y su abundancia en una gran diversidad de especies vegetales comestibles, las convierte en una molécula prometedora para la búsqueda de nuevos fármacos (Rudrapal et al., 2021; Zhuang et al., 2017). Algunas de las propiedades biológicas reportadas para las chalconas incluyen, actividad como anticancerígenos, así como efectos preventivos para el mismo, actividad antiinflamatoria, antibacteriana, antidiabético, antioxidante, antimicrobiano, antiviral y efectos neuroprotectivos (**Tab.1**) (Choi et al., 2018; Fernandes et al., 2021; Guazelli et al., 2021; Kamecki et al., 2021; Konidala et al., 2020; Kostopoulou et al., 2021; Luo et al., 2021; Rioux et al., 2021a; Rocha et al., 2021; L. Wang et al., 2019; Welday Kahssay et al., 2021; W. Zhang et al., 2021; X.-W. Zhang et al., 2010).

Las chalconas contienen un grupo funcional de cetona α , β -insaturado percibido como un potencial aceptor de Michael (contienen un electrófilo usualmente activo biológicamente, involucrados en diversas vías de señalización en las células), que usualmente puede formar enlaces de tipo covalente con el sulfhidrilo de la cisteína u otros tioles para obtener el aducto de Michael. Este tipo de aceptores pueden actuar como inhibidores de las cisteínas proteasas, que se ven envueltas en el desarrollo de diferentes enfermedades que van desde trastornos cardiovasculares, inflamatorios, neurológicos, respiratorios, virales, musculoesqueléticos, inmunológicos, del sistema nervioso central, hasta el cáncer (Santos & Moreira, 2007; Zhuang et al., 2017).

Tabla 1. Actividad reportada para algunas chalconas en los últimos años

Chalcona	Actividad	Año
Chalcona t4	Antiinflamatorio	2021
Caraganins a, b		2019
(E)-1-(2,4-dihydroxyfenil)-3-(4-dimethylamino) fenil) prop-2-en-1-ona		2010
(E)-1-(2-hydroxyfenil)-3-(2,4-dimethoxy-3-methylfenil) prop-2-en-1-ona	Antibacterial	2021
Derivados de trihydroxychalcona		2018
(E)-1-(2,4-dichlorofenil)-3-(2-hydroxy-3-methoxyfenil)prop-2-en-1-ona	Antidiabético	2021
Híbridos de cumarina-chalcona		2020
Hesperidin methyl chalcona	Antioxidante	2021
2'-hydroxy-chalcona		2021
Conjugados de chalcona-poliamina	Anticancerígeno	2021
Igustrazina-chalcona		2021
4,4'-dimethoxychalcona	Neuroprotectivo	2021
2'-hydroxychalconas		2021

Algunos ejemplos de chalconas preniladas estudiadas por sus propiedades anticancerígenas son las siguientes (**Tab.2**):

Xanthohumol: es una chalcona prenilada que se encuentra en el lúpulo y la cerveza. Se ha demostrado que tiene actividad anticancerígena en varios tipos de cáncer, incluyendo el cáncer de mama, el cáncer de próstata y el cáncer colorrectal, observando que inhibe la proliferación celular y la angiogénesis, induce

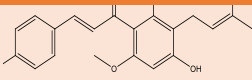
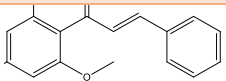
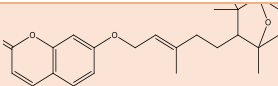
la apoptosis y disminuye la invasión celular (Girisa et al., 2021; X. Li et al., 2022; Vesaghamedani et al., 2022).

Cardamonin: es una chalcona prenilada que se encuentra en el jengibre. Se ha demostrado que tiene actividad anticancerígena en el cáncer de mama, el cáncer de colon y el cáncer de pulmón. Cardamonin induce la apoptosis, inhibe la angiogénesis y disminuye la expresión de proteínas relacionadas con la invasión celular (James et al., 2021; Jin et al., 2019; Nawaz et al., 2020).

Farnesiferol C: es una chalcona prenilada que se encuentra en la raíz de Ferula. Se ha demostrado que tiene actividad anticancerígena en el cáncer de mama, el cáncer de colon y el cáncer de pulmón. Farnesiferol C inhibe la proliferación celular, induce la apoptosis y disminuye la invasión celular (Aas et al., 2015; Alafnan et al., 2022; Hasanzadeh et al., 2017).

La gran diversidad de actividades biológicas de las chalconas probablemente esté relacionada con su pequeña estructura y las propiedades que le confieren los receptores tipo Michael a las chalconas, que las hacen resistentes a otras biomoléculas, permitiéndoles conectarse fácilmente. Debido a que la actividad biológica exhibida por la chalcona plantea desafíos para el desarrollo de productos farmacéuticos basados en estructuras, es importante investigar el mecanismo por el cual la chalcona ejerce su actividad. (Ouyang et al., 2021).

Tabla 2. Actividad anticancerígena reportada para algunas chalconas en los últimos años

Chalcona	Estructura	Fuente
Xanthohumol		(Bartmańska et al., 2018)
Cardamonin		(Jin et al., 2019)
Farnesiferol		(Aas et al., 2015)

Justificación

Debido a que muchos de los pacientes con cáncer de próstata tratados a través de la privación de andrógenos desarrollan un CPRC, es importante realizar investigaciones para la búsqueda de alternativas farmacológicas en el tratamiento de este tipo de cáncer.

Por lo anterior es importante la búsqueda de nuevas moléculas sobre los hallmarks del cáncer y las células resistentes a la castración. El objetivo de este estudio es evaluar el efecto de las chalconas preniladas sobre la morfología, viabilidad, potencial de membrana, apoptosis de las células de CPRC. Además de realizar la caracterización *in silico* de propiedades ADME, así como los blancos de las chalconas y las vías KEGG en donde pueden estar participando. Estos resultados nos darán una aportación en el conocimiento de nuevas moléculas alternativas para el tratamiento del CPRC.

Hipótesis

La interacción de las chalconas preniladas con las células de cáncer de próstata resistentes a la castración producirá cambios en la morfología, viabilidad y potencial de membrana de estas células con respecto a las células de cáncer de próstata no tratadas, además se espera que los ensayos *in silico* nos permitan determinar las vías de acción en las cuales se encuentran involucradas las chalconas preniladas.

Objetivo general

Determinar el efecto de las chalconas preniladas en interacción con las células de cáncer de próstata PC3 y DU 145.

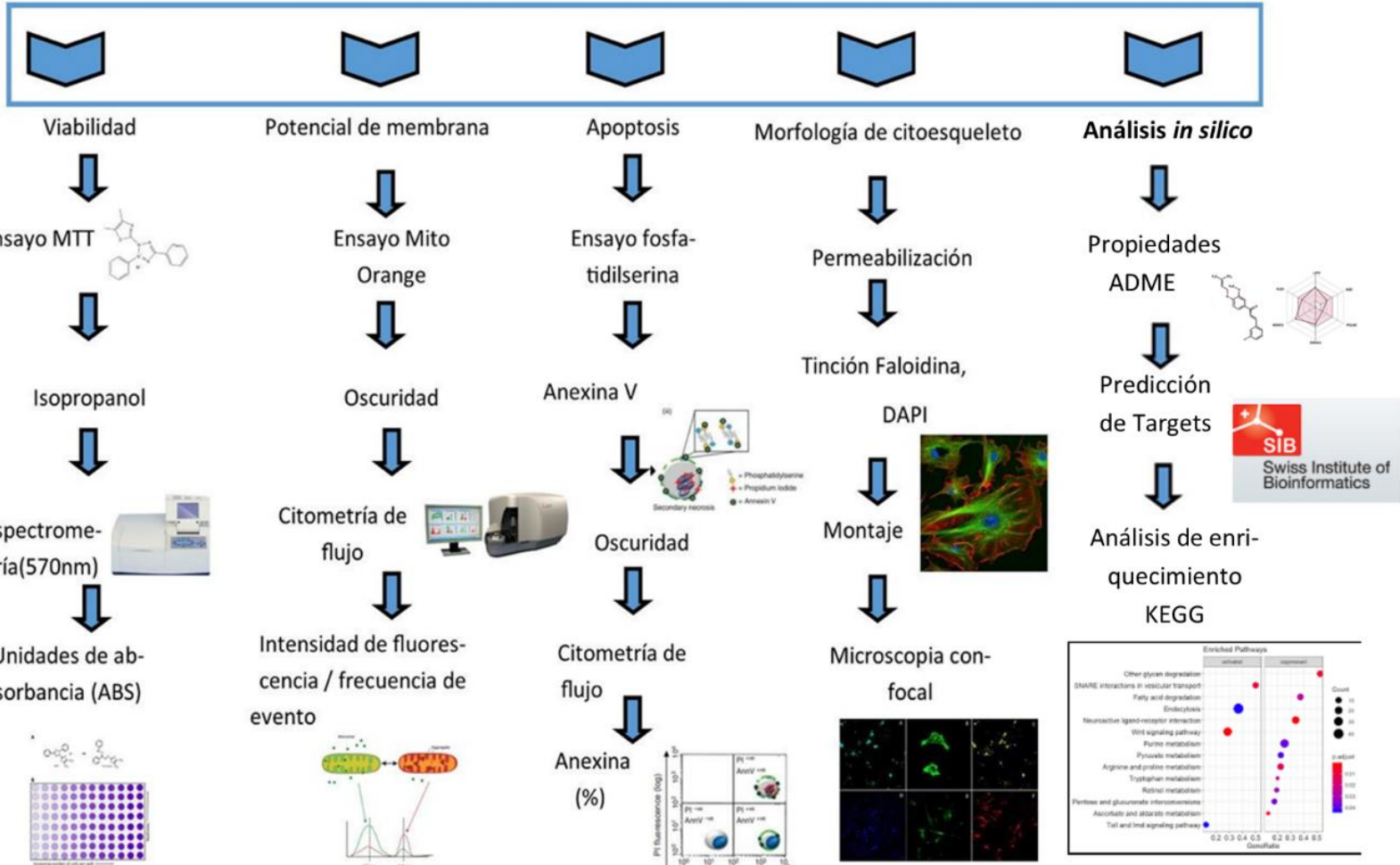
Objetivos particulares

1. Determinar el efecto de las chalconas preniladas sobre la viabilidad de las células de CPRC.
2. Determinar el efecto de las chalconas preniladas sobre el potencial de membrana celular de las células de CPRC.
3. Determinar la apoptosis de las células de CPRC tratadas con las chalconas preniladas con respecto a las células no tratadas.
4. Identificar los cambios morfológicos de las células de CPRC durante la interacción con las chalconas preniladas en comparación con las células no tratadas.
5. Analizar *in silico* los posibles blancos moleculares de las chalconas preniladas y su interacción con las mismas.

Estrategia experimental

Chalconas preniladas

↓
Interacción
(DU145 y PC3)



Materiales y métodos

Chalconas

En este estudio, se usaron y evaluaron nueve chalconas por sus propiedades anticancerígenas (Anexo 1). La síntesis de derivados de chalcona se llevó a cabo en la reacción de condensación de Claisen-Schmidt. En esta reacción, la base de hidróxido atrae el hidrógeno del derivado de la acetona y forma aniones anolizados (carbaniones). El carbonilo ataca el dióxido de carbono de los derivados de benzaldehído que reemplazan al intermedio de dióxido de carbono hidroxilado. Este intermediario genera chalconas espontáneamente bajo condiciones ácidas.

Líneas celulares

Las líneas celulares de cáncer de próstata humano (PC3 y DU 145) al igual que la línea celular epitelial de próstata no cancerígena (RWPE-1) se adquirieron de la American Type Culture Collection. Las células se cultivaron en medio DMEM para células DU 145, medio RPMI para células PC3 y SFM para RWPE-1. Los medios se complementaron con FBS al 10 %, L-glutamina al 1 % y penicilina 100 U/ml y estreptomicina 100 mg/ml. Los cultivos se mantuvieron en una atmósfera humidificada que contenía CO₂ al 5 % a 37 °C. Para todos los experimentos, las células se sembraron a $0,8 \times 10^4$ células/cm².

Análisis de viabilidad celular por ensayo de MTT y cálculo de índice de selectividad

El ensayo de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) se usó para medir los efectos citotóxicos de las distintas series de chalconas. Las células fueron sembradas (1×10^4 células/pozo) en placas de 96 pozos. 24 h después del sembrado se verificó que se tuviera un 80-90% de confluencia para cada pozo y se procedió a dar tratamiento, las células (DU 145, PC3 y RWPE-1) se expusieron a varias concentraciones de estos compuestos (25, 50, 75, 100 µM) durante 0, 24, 48 h. El medio sin compuesto fue usado como control experimental. Al finalizar los tiempos de tratamiento se añadió un total de 20 µL de MTT (5 mg/mL) a cada

pocillo y se dejó incubar durante 3h en condiciones de oscuridad. Posteriormente se eliminó la solución de MTT y los cristales de formazán generados se disolvieron en 150 μ L de Isopropanol (Sigma-Aldrich, MO, EE. UU.). Las placas fueron leídas a una densidad óptica de 570 nm usando un lector de placas universal Biotek Elx 800. La viabilidad celular (%) se expresó como un porcentaje relativo a las células de control no tratadas. Los valores IC₅₀ y sus intervalos de confianza del 95% (95CI%) se obtuvieron mediante regresión no lineal de tres experimentos independientes realizados por triplicado.

Se selecciono el mejor tiempo de tratamiento, así como las IC₅₀ de las chalconas con mejor actividad para la realización de los siguientes ensayos.

Tras la selección de las dos IC₅₀ de las chalconas con mayor actividad se procedió a calcular el índice de selectividad de las mismas, el cual se encuentra dado por la siguiente ecuación.

$$\text{Indice de selectividad} = \frac{IC_{50} \text{ línea no cancerígena}}{IC_{50} \text{ línea cancerígena}}$$

Donde IC₅₀ es la concentración del compuesto o fármaco que inhibe el crecimiento celular en un 50%.

Un índice de selectividad igual o mayor que 1 indica una mayor selectividad hacia la línea celular cancerígena (Bartmańska et al., 2018).

Análisis del potencial de membrana mitocondrial

La prueba con Mitoorange se utiliza para medir la pérdida de potencial de membrana (MMP). La interrupción del potencial de la membrana mitocondrial coincide con la translocación de la membrana que conduce a la liberación de citocromo C en el citoplasma, lo que desencadena otros eventos aguas abajo en la cascada apoptótica.

Las células fueron sembradas (8×10^5) en placas de 6 pozos y 24 h después del sembrado después de alcanzar una confluencia del 80-90% fueron tratadas con las chalconas seleccionadas del ensayo de viabilidad por MTT. El medio sin compuesto fue usado como control negativo y como control positivo se utilizó

CCCP a una concentración de 50 μ M. Pasado el tiempo de tratamiento, las células fueron recolectadas de los pozos en tubos falcon de 15ml, se les adiciono 2 μ L de la solución MitoOrange 200x y se dejaron incubar por 15 minutos a 37°C, 5% CO₂. Posteriormente las células fueron centrifugadas a 1000 rpm durante 4 minutos y se procedió a resuspenderlas en 1mL de PBS. La intensidad de la fluorescencia fue monitoreada usando un citómetro de flujo (Especificación del equipo usado) en el canal FL 2 (Ex/Em = 540/590nm) creando un gate de las células de interés excluyendo los escombros. Se determinó el porcentaje de células con colapso de potencial de membrana usando el software FlowJo en su versión 10.8.1.

Ensayo de apoptosis por anexina V

Las posibles células apoptóticas y no viables se analizaron mediante tinción con anexina V-FITC/PI. Las células fueron sembradas (8 x10⁵) en placas de 6 pozos y 24 h después del sembrado tras alcanzar una confluencia del 80-90% fueron tratadas con las chalconas seleccionadas del ensayo de viabilidad por MTT. Tras concluir con el tratamiento, las células se recolectaron y lavaron con PBS, seguido de la adición de tampón de unión (1 \times) (500 μ L) y anexina V-FITC (5 μ L), luego se incubaron a temperatura ambiente en la oscuridad durante 15 min. Después de la incubación, se agregaron 5 μ L de PI (50 μ g/mL) y se procesaron inmediatamente en el citómetro de flujo (especificación del citómetro) y se cuantificaron con el software FlowJo en su versión 10.8.1.

Los resultados se generaron a partir de triplicados de tres experimentos independientes.

Docking molecular

Las estructuras cristalizadas del canal HERG (ID:7CN1) y la glicoproteína P (ID:6C0V) se recuperaron de la base de datos PDB RCSB. Las chalconas utilizadas para el ensayo se seleccionaron y prepararon como ligandos, el acoplamiento molecular se realizó utilizando UCSF Chimera en su versión 1.16. Los pasos para preparar ligandos y proteínas para el protocolo de acoplamiento se realizaron con la configuración predeterminada. Posteriormente, los archivos PDB

de las proteínas diana y los compuestos preparados (ligandos) se enviaron a AutoDock Vina vía chimera, para predecir la estructura de los complejos proteína-ligando y evaluar la energía de unión. Los resultados del acoplamiento molecular se analizaron con Discovery Studio 2021 en su versión 21.1.0.20298

Predicción de parámetros ADME, objetivos macromoleculares y análisis de enriquecimiento KEGG

La plataforma SwissADME se utilizó para predecir los parámetros ADME de las estructuras químicas de las chalconas seleccionadas con mejor actividad. Luego se usó la plataforma SwissTargetPrediction para estimar los objetivos macromoleculares más probables de moléculas pequeñas que podrían ser biológicamente activas. Esta predicción se logró mediante la comparación de similitudes en 2D y 3D utilizando una biblioteca de 370 000 activos conocidos de más de 3000 proteínas de tres especies diferentes.

Una vez obtenidos los targets predichos para ambas chalconas, se procedió al análisis de enriquecimiento usando la plataforma Enricher y seleccionando la base de datos CellMarker_Augmented_2021 para observar en qué tipos de línea celular se encuentran en mayor medida los objetivos moleculares predichos.

Análisis estadístico

Los experimentos se repitieron al menos tres veces y se expresaron como media. Los valores de p entre los grupos se determinaron mediante la prueba ANOVA de dos vías * $P < 0,05$.

Resultados

Viabilidad celular

Los ensayos de MTT se realizaron para detectar la viabilidad de células tratadas con las chalconas preniladas. Se usaron 9 chalconas preniladas sobre las líneas celulares DU 145 y PC3. Ambas líneas celulares se trataron con 25, 50, 75 y 100 μM de cada compuesto y la viabilidad celular se evaluó después de 0, 24 y 48 h (**Fig. 18**). Los compuestos PVONA/3F y PVINA/2CL tuvieron efecto sobre ambas líneas celulares probadas reduciendo su viabilidad hasta un 46.6% y 26.56% respectivamente sobre la línea PC3, de la misma forma los compuestos PVONA/3F y PVINA/2CL redujeron la viabilidad en la línea celular DU 145 hasta un 48.94% y 28.29% respectivamente a un tiempo de 48 h. El tratamiento con 100 μM de PVONA/3F y PVINA/2CL indujo una disminución significativa en la viabilidad de las células DU 145 a las 48 h ($P < 0,5$) (**Fig. 18A**). De manera similar, estas chalconas mostraron una actividad citotóxica significativa en las células PC3 a las 48 h ($P < 0,5$). En la línea celular PC3, el tratamiento con 100 μM de PVONA/3F Y PVINA/2CI también disminuyó significativamente la viabilidad celular después de 48 h ($p < 0,05$) (**Fig. 18B**).

Posteriormente se obtuvieron los valores de IC_{50} para cada compuesto, esto se realizó a través de curvas donde se graficó la viabilidad de las células DU 145 y PC3 (%) frente a los diferentes niveles de tratamiento de los compuestos a las diferentes concentraciones (μM). A las 48 h, los valores de IC_{50} para la chalcona PVONA/3F en células DU 145 y PC3 fueron de 88.73 μM y 54.96 μM respectivamente [intervalos de confianza (IC) del 95 % (μM)], (**Tab. 2**). Con respecto al compuesto PVINA/2CI, los valores de IC_{50} en las células DU 145 y PC3 fueron 61.71 μM y 57.22 μM respectivamente. Estos resultados mostraron que las chalconas PVONA/3F y PVINA/2CL presentan valores de IC_{50} más altos en DU 145 que en las células PC3 (**Tab.2**). Los índices de selectividad fueron calculados para estas dos últimas chalconas observando en todos los casos

valores iguales o mayor a 1, lo que indica una buena selectividad por parte de las mismas (Fig. 19)

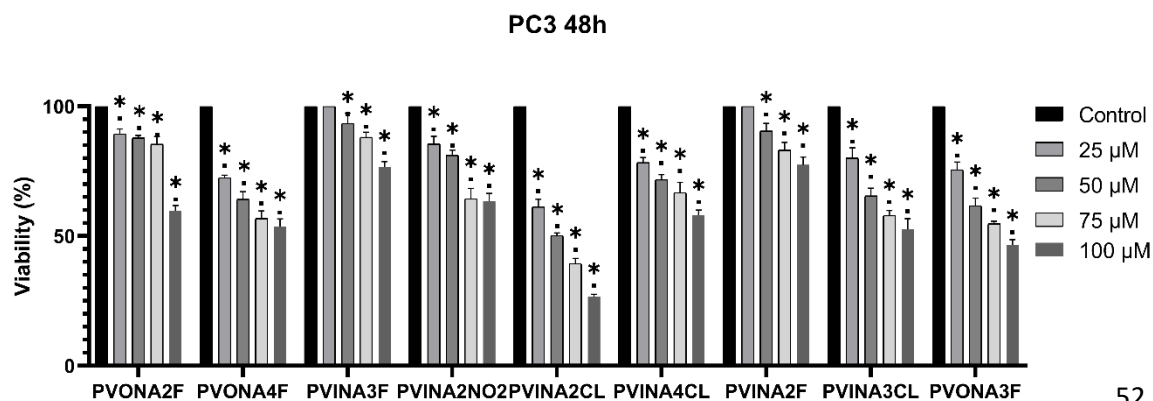
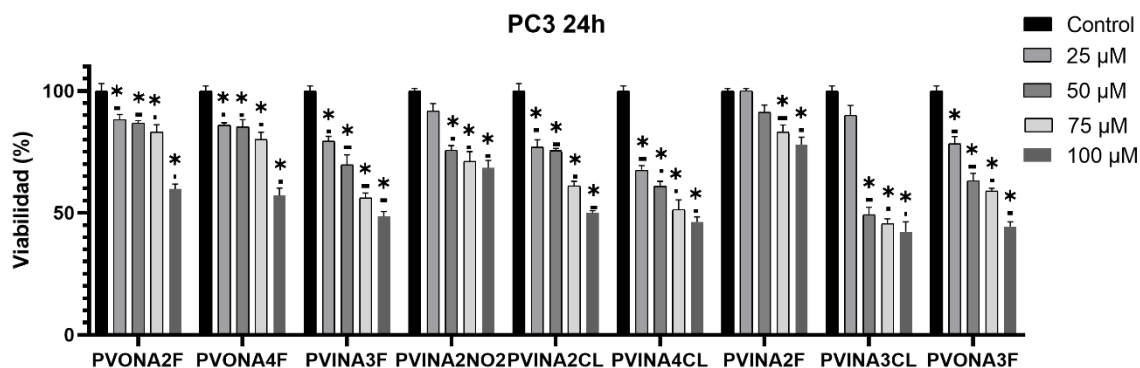
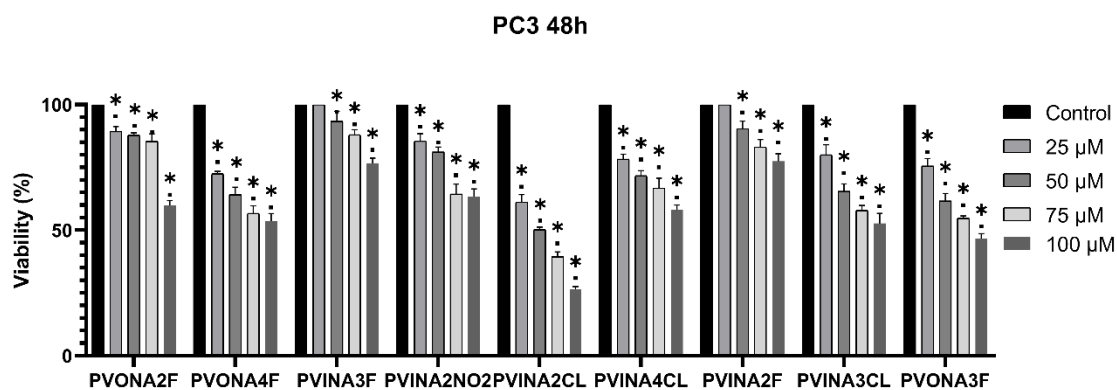
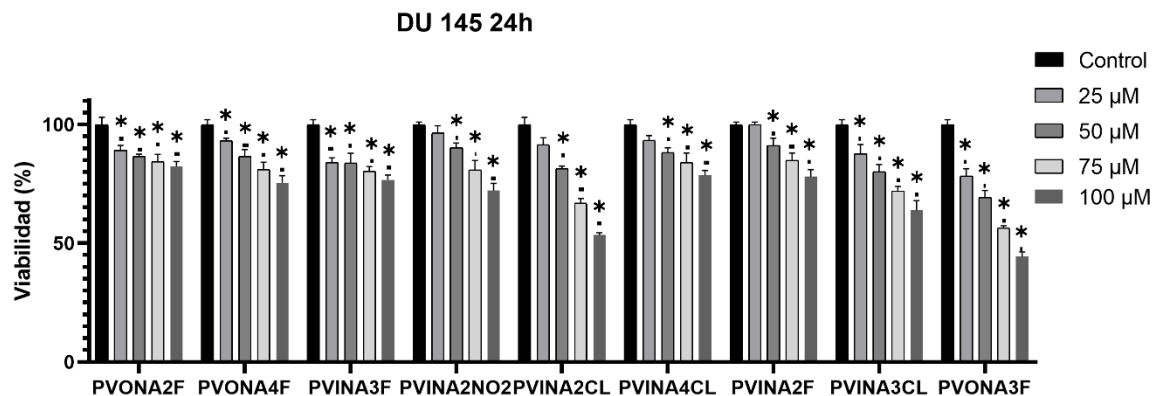
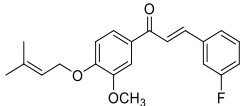
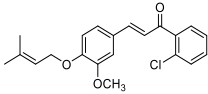
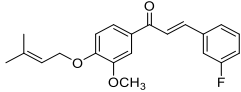
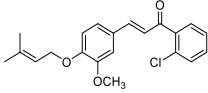
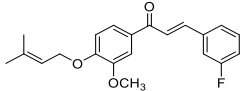
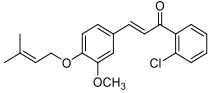


Figura 18 Viabilidad celular de líneas celulares **(A)** DU 145 y **(B)** PC3 en respuesta a las series de chalconas preniladas utilizada, se testearon cuatro niveles de tratamiento 25, 50, 75 y 100 μM de cada uno de los compuestos a tiempos de 48 h y 72 h.

Tabla 2. Valor de IC_{50} de las dos mejores chalconas en tiempo de 48 h

DU 145 48 h	Estructura	IC_{50} (μM)
PVONA3F		88.73
PVINA2CL		61.71
PC3 48 h	Estructura	IC_{50} (μM)
PVONA/3F		54.969
PVINA/2CL		57.22
RWPE-1 48 h	Estructura	IC_{50} (μM)
PVONA/3F		139.519
PVINA/2CL		62.346

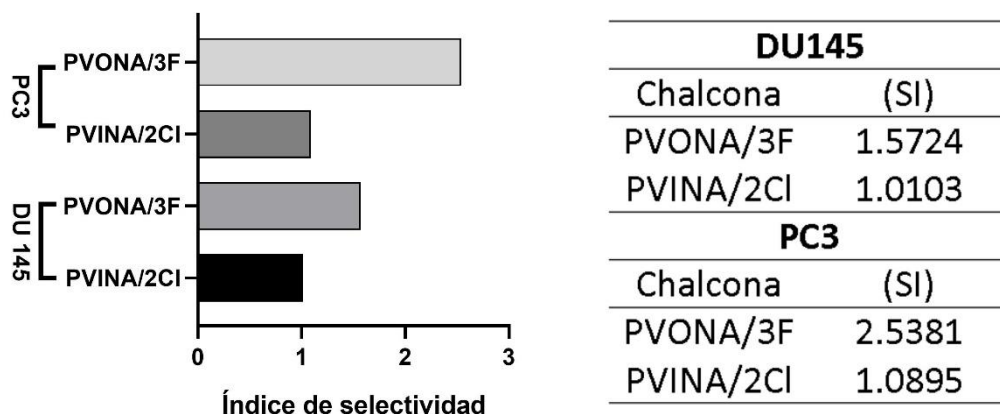
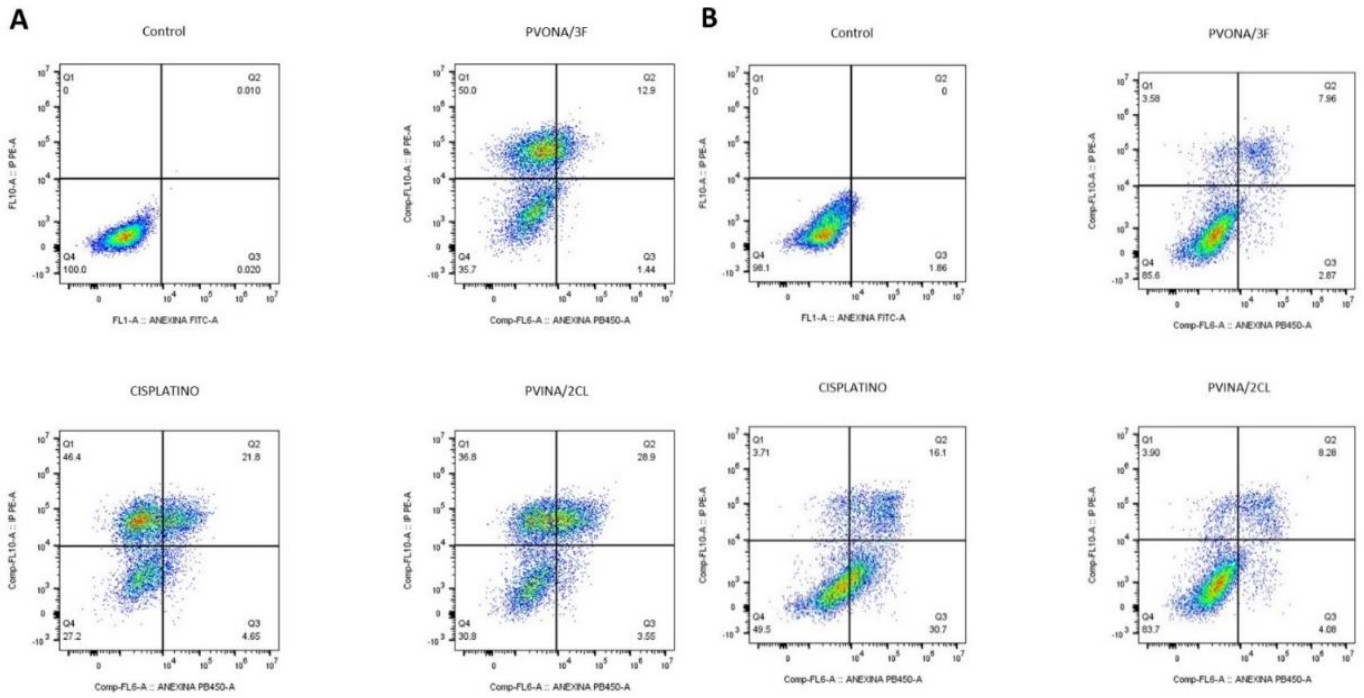


Figura 19. Índice de selectividad calculado para las dos mejores chalconas a un tiempo de 48 h, se considera que posee buena selectividad a partir de un valor de 1

Inducción de apoptosis

El tratamiento de las células DU 145 y PC3 con las chalconas PVONA/3F y PVINA/2CI (IC_{50} μ M) aumentó el número de células en la etapa temprana de la apoptosis, este dato se observa en un aumento de células positivas para anexina V en comparación con el 1.86 y 0.02 % de células apoptóticas en fase temprana de la población de células de control no tratadas después de 48 horas. Además, se observó un aumento en las células teñidas positivamente tanto con anexina V como con PI (eventos apoptóticos tardíos o muerte celular) en células DU 145 tratadas con las chalconas PVONA/3F y PVINA/2CI. También se obtuvieron resultados similares en células PC3 tratadas con las chalconas PVONA/3F y PVINA/2CI (**Fig. 20**). Estos resultados indicaron claramente que la apoptosis juega un papel importante en la maquinaria de muerte en las células DU 145 y PC3 tratadas con ambas chalconas.



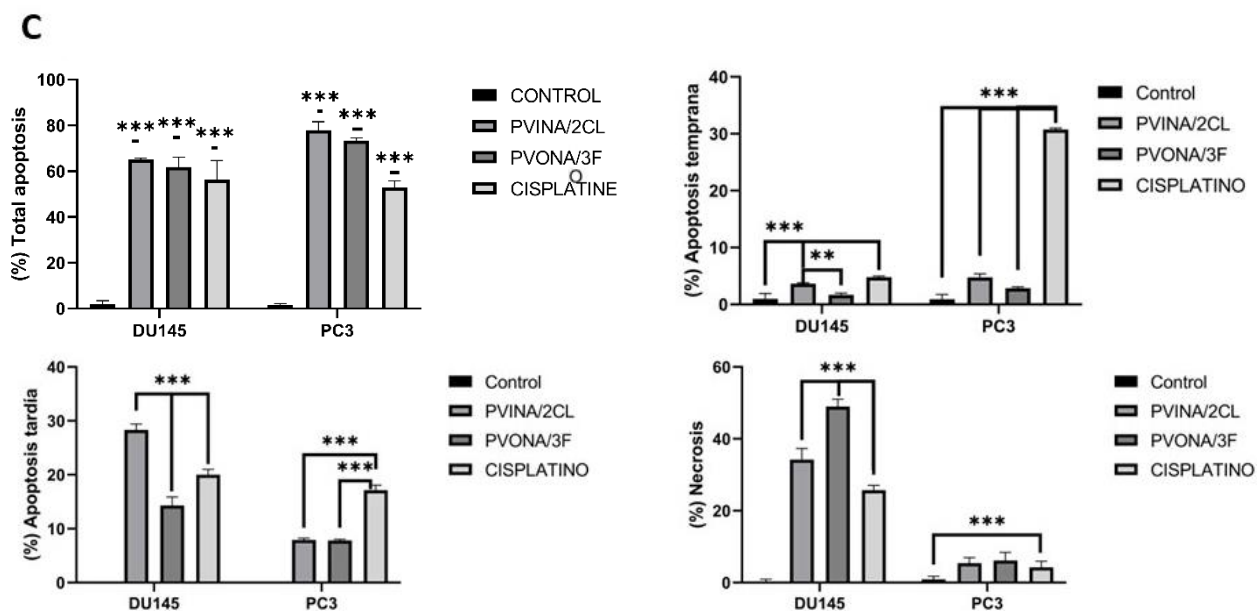
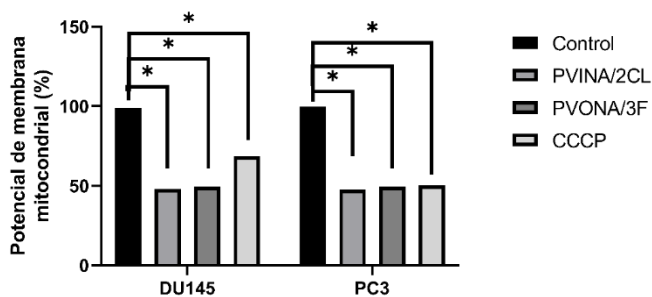


Figura 20. Caracterización de la apoptosis en células DU 145 (A) y PC3 (B) tratadas con chalcona PVONA/3F, PVINA/2Cl (IC₅₀ μ M) analizadas mediante el protocolo de citometría de flujo de anexina V/PI a las 48 h del tratamiento. Se muestra una imagen representativa de tres experimentos independientes, frente a células de control (sin tratar y cisplatino). (C) Porcentaje de células vivas, en apoptosis temprana, tardía y necrosis.

Efecto de las chalconas sobre el potencial de la membrana mitocondrial

Uno de los primeros eventos que se presentan en la apoptosis es el cambio en el funcionamiento mitocondrial. La integridad de la membrana mitocondrial y los cambios producidos en el potencial de la membrana mitocondrial (PMM) fueron evaluados utilizando el colorante Mito Orange. Como se muestra en la **Fig. 21**, después del tratamiento con las chalconas PVONA/3F y PVINA/2CL, se detectó el deterioro de la función mitocondrial caracterizada por la caída de PMM en comparación con las células no tratadas, los tratamientos con PVINA/2Cl obtuvieron 48% y 47% de $\Delta\Psi_m$ en las líneas celulares DU 145 Y PC3 respectivamente, mientras que PVONA/3F obtuvo un $\Delta\Psi_m$ de 49.6% en ambas líneas celulares. En ambos tratamientos el potencial de membrana fue menor comparado con el control positivo CCCP presentando

$\Delta\Psi_m$ de 69.5% y 50.2% par DU 145 y PC3 respectivamente.



Línea celular\Potencial de membrana	Control	PVINA/2CL	PVONA/3F	CCCP
DU 145	99 (%)	48 (%)	49.6 (%)	68.5 (%)
PC3	99.8 (%)	47.5 (%)	49.6 (%)	50.2 (%)

Figura 21. Efecto de las chalconas sobre el potencial de membrana sobre las líneas celulares DU 145 y PC3. Se analizaron los cambios de potencial de membrana en células tratadas con PVONA/3F (IC50) y PVINA/2CI (IC50) 48 h después del tratamiento

Morfología

Para determinar el efecto de las chalconas PVINA/2CI y PVONA3/F sobre la morfología celular, evaluamos el citoesqueleto de actina y el núcleo de las mismas. Las células PC3 y DU 145 sin tratar mostraron un patrón definido de filamentos de actina; estos filamentos se extienden desde la capa de actina perinuclear hasta la región cortical de la célula (**Fig. 22 A y B**). Los filamentos de actina forman fibras de estrés que brindan soporte a la célula y juegan un papel importante en la mecanotransducción, que es una característica de las células que crecen en estratos rígidos.

Para las células PC3 y DU 145 tratadas con PVINA/2Cl y PVONA/3F, se perdió el patrón definido de filamentos de actina. (RMA), además se observó fragmentación nuclear, patrón típico de muerte celular programada. (**Fig. 22 A y B**).

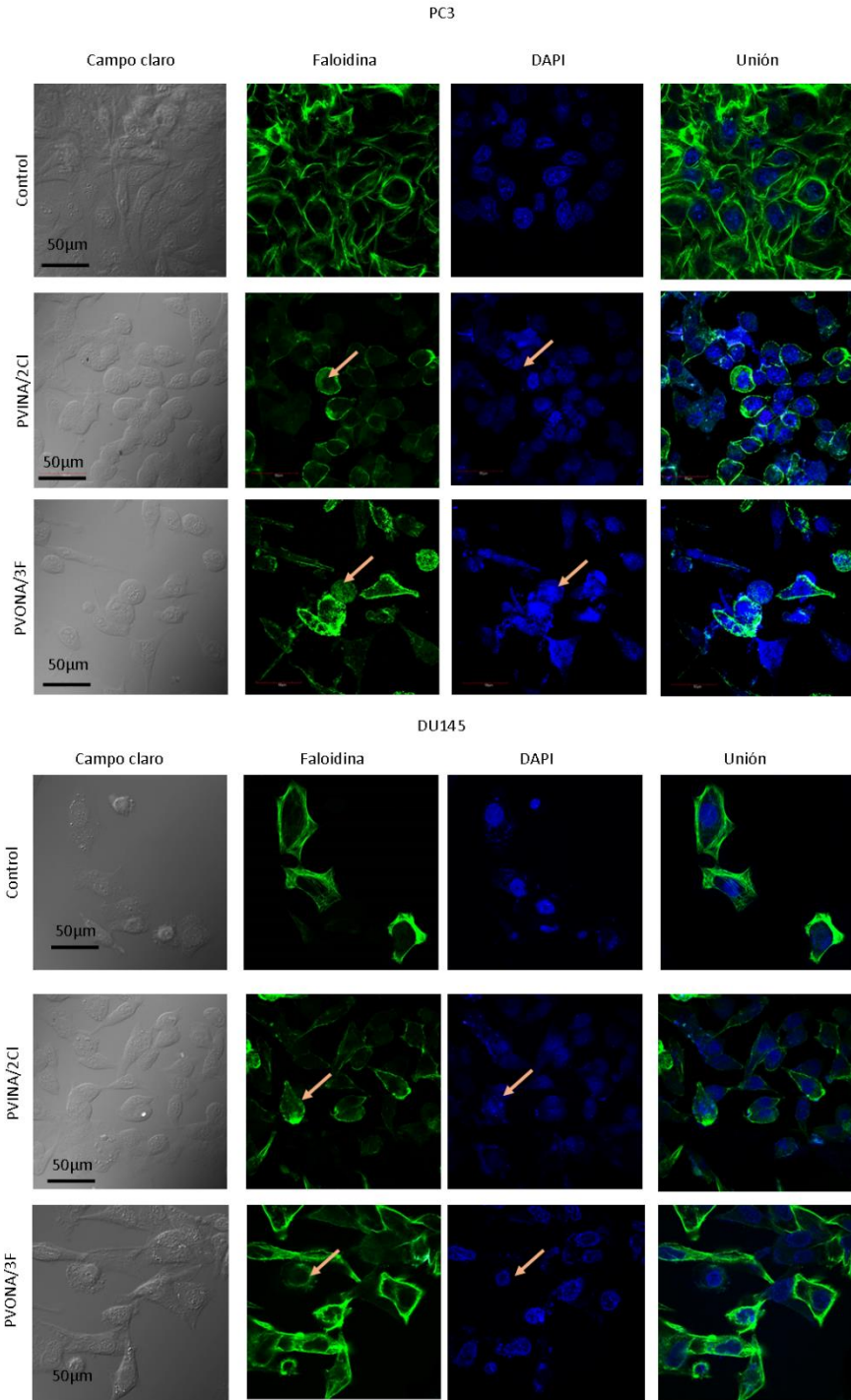


Figura 22. Efecto de las chalconas en la morfología de las líneas celulares PC3 y DU 145. Se muestran de forma independiente los canales correspondientes al marcaje de faloidina, dapi, unión del canal correspondiente a faloidina con dapi y la imagen del campo claro obtenida.

Docking molecular

El análisis de acoplamiento molecular nos mostró las interacciones entre las chalconas PVINA/2Cl y PVONA/3F y los objetivos relacionados con la resistencia a los medicamentos en el cáncer. Como resultado del ensayo se observaron interacciones entre PVINA/2Cl y el sitio catalítico de la proteína Glicoproteína-P (**Fig.23, Tab.3**), la afinidad de unión fue negativa y por lo tanto favorable para ambos casos. En el caso de PVONA/3F, el análisis de acoplamiento se realizó contra el canal HERG (**Fig.24, Tab.3**), se observó una interacción en los residuos de Tyr 652, estos residuos han sido reportados como sitios de unión importantes en el bloqueo del canal HERG. Estos resultados sugieren que estos dos compuestos podrían usarse junto con otros medicamentos para sensibilizar a las células cancerosas y bloquear algunos de sus mecanismos de resistencia a los medicamentos.

Tabla 3. Análisis de unión molecular: se muestran la energía de unión y el tipo de interacción molecular de las chalconas contra la glicoproteína P y el canal HERG.

Ligando	Afinidad de unión (kcal/mol)	Receptor	Átomo donante	Distancia	Átomo aceptor	Categoría	Tipos de interacción
PVINA/2CI	-8.4	P-glycoprotein	***1C	3.8 A	A:ILE 160	Enlace de hidrógeno	Enlace de hidrógeno de carbono
			***1	3.02 A	A:THR 906	Enlace de hidrógeno	Donante de hidrógeno Pi-Donor
			***1	5.39 A	A:ARG 905	Hidrofóbico	Pi-alquilo
			***1:O	2.7 A	A:ARG 905HN	Enlace de hidrógeno	Enlace de hidrógeno convencional
			***1:O	2.22	A:THR 906HN	Enlace de hidrógeno	Enlace de hidrógeno convencional
			***1		A:VAL 478	Hidrofóbico	Pi-alquilo
			Donor atom	Distance	Acceptor atom	Categoría	Tipos de interacción
PVONA/3F	-6.7	HERG	***1	4.76 A	B: ALA 653	Hidrofóbico	Pi-alquilo
			***1:F	3.03 A	A: SER 660	Enlace de hidrógeno	Enlace de hidrógeno de carbono
			***1:F	2.34 A	A: GLY 657	Enlace de hidrógeno, halógeno	Halógeno (flúor)

			***1:F	3.29 A	A: PHE 650	halógeno	Halógeno (Flúor)
			***1: C	5.17 A	C:TYR 652	Hidrofóbico	Pi-Alkaly
			***1: C	5.46 A	C:TYR 652	Hidrofóbico	Pi-Alkaly
			***1: C	3.7 A	C:ALA 653	Hidrofóbico	alquilo
			***1	5.13	D: ALA653	Hidrofóbico	Pi-Alkaly
			***1	4.66	D: TYR 652	Hidrofóbico	Pi-Pi en forma de T

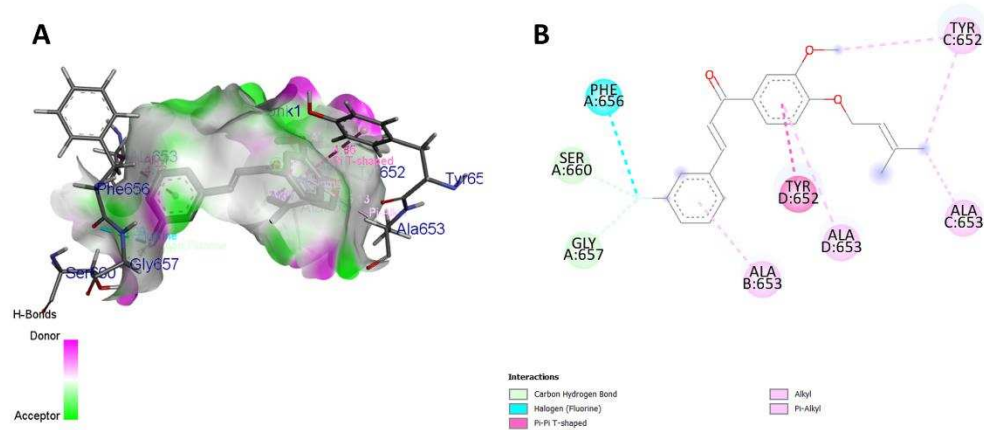


Figura 23. Acoplamiento molecular de **PVONA/3F** y canal **HERG** (A) diagrama 3-D (tridimensional) basado en las características de donante y aceptor de enlaces de hidrógeno de los residuos de aminoácidos y (B) diagrama 2-D (bidimensional) que muestra varias interacciones entre PVONA3/F y el canal. PRO: prolina, THR: treonina, LEU: leucina, HIS: histidina, ASN: asparagina.

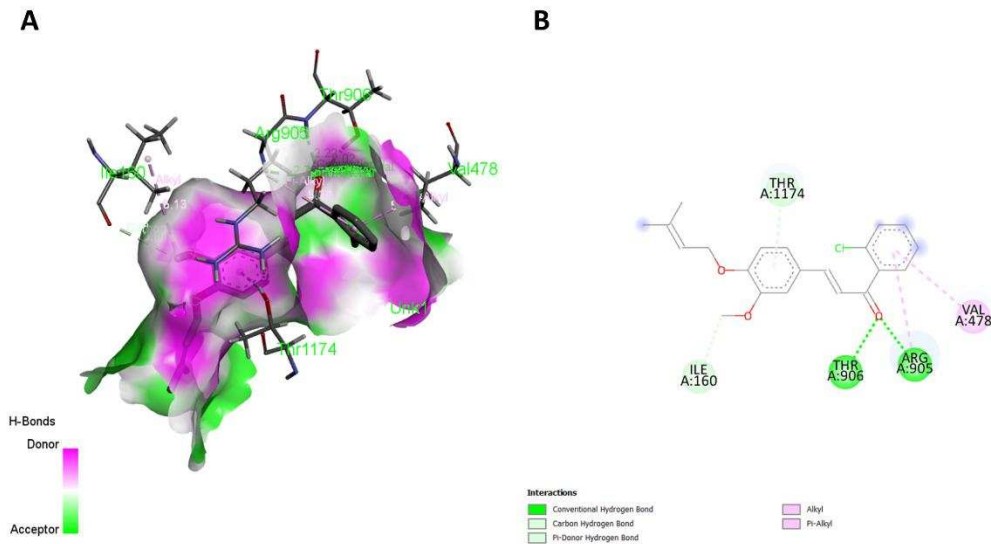


Figura 24. Acoplamiento molecular de **PVINA/2CI y Pgp** (A) diagrama 3-D (tridimensional) basado en las características del donante y aceptor de enlaces de hidrógeno de los residuos de aminoácidos y (B) diagrama 2-D (bidimensional) que muestra varias interacciones entre PVINA/2CI y la glicoproteína P. PRO: prolina, THR: treonina, LEU: leucina, HIS: histidina, ASN: asparagina.

Predicción de parámetros ADME, objetivos macromoleculares y análisis de enriquecimiento KEGG

Los resultados de los parámetros moleculares ADME (**fig. 25**) y de objetivos macromoleculares predichos para la chalcona PVONA/3F y PVINA/2CI mostraron que posee valores aptos de Lipofilicidad ($-0.7 < XLOGP3 < +5.0$), tamaño ($150\text{g/mol} < MV < 500\text{g/mol}$), polaridad ($20 \text{ \AA} < TPSA < 130 \text{ \AA}$), insolubilidad ($-6 < \text{Log S ESOL} < 0$), insaturación ($0.25 < \text{Fracción Csp3} < 1$) y flexibilidad ($0 < \text{Numero de átomos rotables} < 9$) adecuados para una buena biodisponibilidad oral, los valores de los parámetros ADME predichos se muestran en las tablas **4** y **5**.

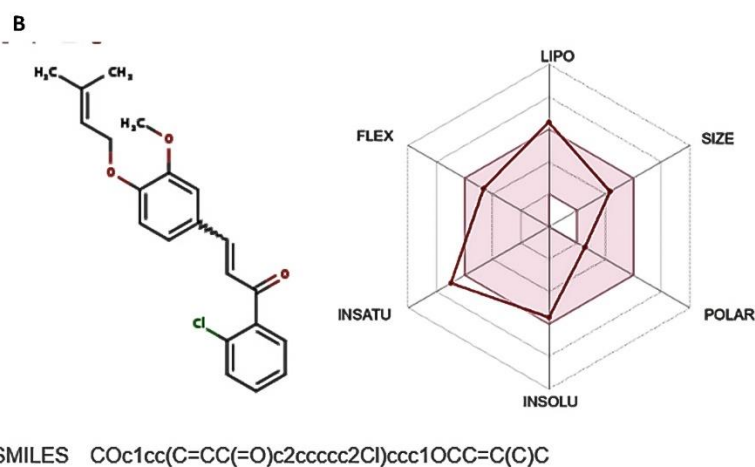
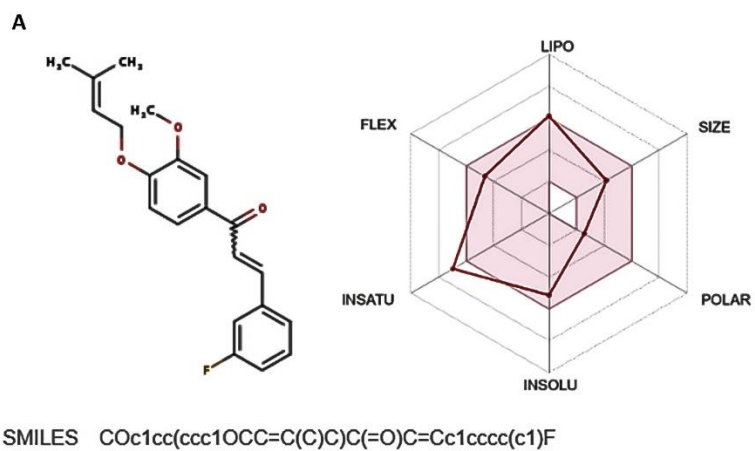


Figura 25. Caracterización ADME de las chalconas PVONA/3F (A) y PVINA/2Cl (B). La zona sombreada determina el espacio fisicoquímico para biodisponibilidad oral. Lipo= Lipofilicidad, Size=Tamaño, Polar= polaridad, Insolu= onsolubilidad, Insatu= Insaturación, Flex= flexibilidad

Tabla 4. Caracterización ADME obtenida para la chalcona PVONA/3F

Propiedades fisicoquímicas		Lipofilicidad	
Formula	C21H21FO3	Log $P_{o/w}$ (iLOGP)	3.83
Molecular weight	340.39 g/mol	Log $P_{o/w}$ (XLOGP3)	5.23
Num. heavy atoms	25	Log $P_{o/w}$ (WLOGP)	5.39
Num. arom. heavy atoms	12	Log $P_{o/w}$ (MLOGP)	3.88
Fraction Csp3	0.19	Log $P_{o/w}$ (SILICOS-IT)	5.69
Num. rotatable bonds	7	Consensus Log $P_{o/w}$	4.80
Num. H-bond acceptors	4	Farmacocinética	
Num. H-bond donors	0	GI absorción	High
Molar Refractivity	97.94	BBB permeabilidad	Si
TPSA	35.53 Å ²	P-gp substrate	No
Solubilidad del agua		CYP1A2 inhibidor	Si
Log S (ESOL)	-5.14	CYP2C19 inhibidor	Si
Solubility	2.47e-03 mg/ml ; 7.27e-06 mol/l	CYP2C9 inhibidor	Si
Class	Moderadamente soluble	CYP2D6 inhibidor	Si
Log S (Ali)	-5.72	CYP3A4 inhibidor	Si
Solubility	6.42e-04 mg/ml ; 1.89e-06 mol/l	Log K_p (permeabilidad en piel)	-4.66 cm/s
Class	Moderadamente soluble	Semejanza a los fármacos	
Log S (SILICOS-IT)	-6.34	Lipinski	Si; 0 violación
Solubility	1.57e-04 mg/ml ; 4.61e-07 mol/l	Ghose	Si
Class	Pobrememente soluble	Veber	Si
Química medicinal		Egan	Si
PAINS	0 alert	Muegge	No; 1 violación: XLOGP3>5
Brenk	2 alerts: isolated_alkene, michael_acceptor_1	Puntaje de biodisponibilidad	0.55
Leadlikeness	No; 1 violacion : XLOGP3>3.5		
Synthetic accessibility	3.14		

Tabla 5. Caracterización ADME obtenida para la chalcona PVINA/2Cl

Propiedades fisicoquímicas

Lipofilicidad

Formula	C21H21ClO3	Log $P_{o/w}$ (iLOGP)	3.94
Molecular weight	356.84 g/mol	Log $P_{o/w}$ (XLOGP3)	5.76
Num. heavy atoms	25	Log $P_{o/w}$ (WLOGP)	5.48
Num. arom. heavy atoms	12	Log $P_{o/w}$ (MLOGP)	3.99
Fraction Csp3	0.19	Log $P_{o/w}$ (SILICOS-IT)	5.91
Num. rotatable bonds	7	Consensus Log $P_{o/w}$	5.02
Num. H-bond acceptors	3	Farmacocinética	
Num. H-bond donors	0	GI absorption	High
Molar Refractivity	103.00	BBB permeabilidad	Si
TPSA	35.53 Å ²	P-gp substrate	No
Solubilidad del agua		CYP1A2 inhibidor	Si
Log S (ESOL)	-5.14	CYP2C19 inhibidor	Si
Solubility	2.47e-03 mg/ml ; 7.27e-06 mol/l	CYP2C9 inhibidor	Si
Class	Moderadamente soluble	CYP2D6 inhibidor	Si
Log S (Ali)	-5.72	CYP3A4 inhibidor	Si
Solubility	6.42e-04 mg/ml ; 1.89e-06 mol/l	Log K_p (permeabilidad en piel)	-4.39 cm/s
Class	Moderadamente soluble	Semejanza a los fármacos	
Log S (SILICOS-IT)	-6.34	Lipinski	Si; 0 violación
Solubility	1.57e-04 mg/ml ; 4.61e-07 mol/l	Ghose	Si
Class	Pobrememente soluble	Veber	Si
Química medicinal		Egan	Si
PAINS	0 alert	Muegge	No; 1 violación: XLOGP3>5
Brenk	2 alerts: isolated_alkene, michael_acceptor_1	Puntaje de biodisponibilidad	0.55
Leadlikeness	No; 2 violacion s: MW>350, XLOGP3>3.5		
Synthetic accessibility	3.19		

En cuanto al análisis farmacocinético de los compuestos, se encontró en ambos casos una alta absorción gastro intestinal, permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BBB por sus siglas en inglés) y un bajo valor para la absorción

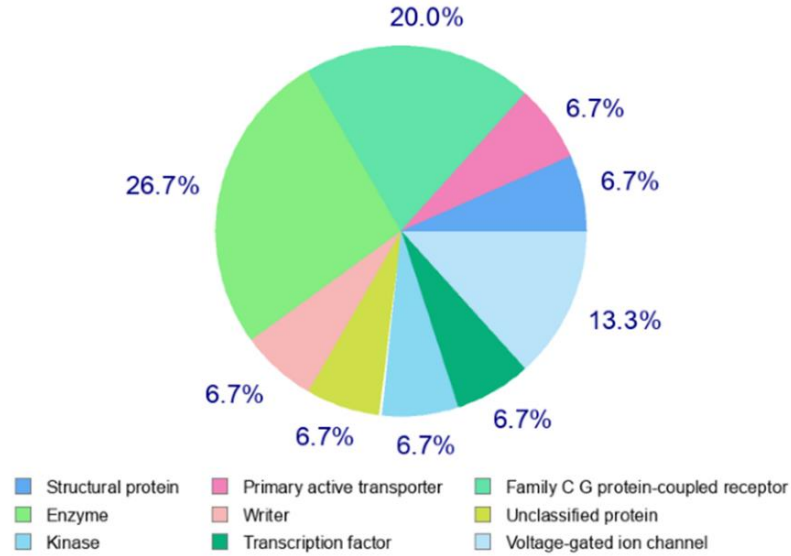
por piel. Ciertos fármacos de molécula pequeña pueden atravesar la BBB a través de la difusión libre mediada por lípidos, siempre que el fármaco tenga un peso molecular <400 Da y forme <8 enlaces de hidrógeno. Estas propiedades químicas faltan en la mayoría de los fármacos de molécula pequeña y en todos los fármacos de molécula grande (Pardridge, 2012), además la absorción gastrointestinal alta ayuda a que el fármaco sea aprovechado de una mejor manera, usualmente fármacos con absorción gastrointestinal pobre suelen aplicarse de tal forma que sus tiempos de exposición sean más largos, conduciendo a una mayor absorción del fármaco (Vinarov et al., 2021),

Las pruebas de semejanza a los fármacos fueron positivas para Lipinski, Ghose, Veber y Egan, solo se presentó una violación en los parámetros de Muege, ya que el valor de lipofilicidad en ambos casos fue ligeramente mayor a 5 XLOGP3, el cual es máximo admitido (**Tabla 4 y 5**), dando un valor de 5.26 XLOGP3 para el caso de PVINA/2Cl y de 5.23 XLOGP3 para el caso de PVONA/3F. Los valores obtenidos en las pruebas de semejanza a fármacos y al igual que los parámetros farmacocinéticos sugieren que estas moléculas o alguna similar podrían ser buenas candidatas para la generación de fármacos de biodisponibilidad oral.

La predicción de targets arrojó 15 posibles targets para la chalcona PVONA/3F y 24 para PVINA/2Cl (**Tabla 6 y 7**), para ambos casos la mayoría de las interacciones se dan entre enzimas (**Fig. 26**).

Dentro de los targets predichos se observaron dos relacionados con la resistencia a fármacos, los cuales son la glicoproteína P y el canal HERG, ambos son proteínas que bombean los fármacos suministrados al exterior de la célula, provocando que estos no sean efectivos. (S.-Z. Chen et al., 2005; Mollazadeh et al., 2018; Rapetti-Mauss et al., 2020; Waghray & Zhang, 2018). Estos targets fueron seleccionados para un docking molecular dirigido sus sitios de inhibición, con el fin de observar si el tratamiento de las chalconas ayudan a mitigar la resistencia a los fármacos.

A



B

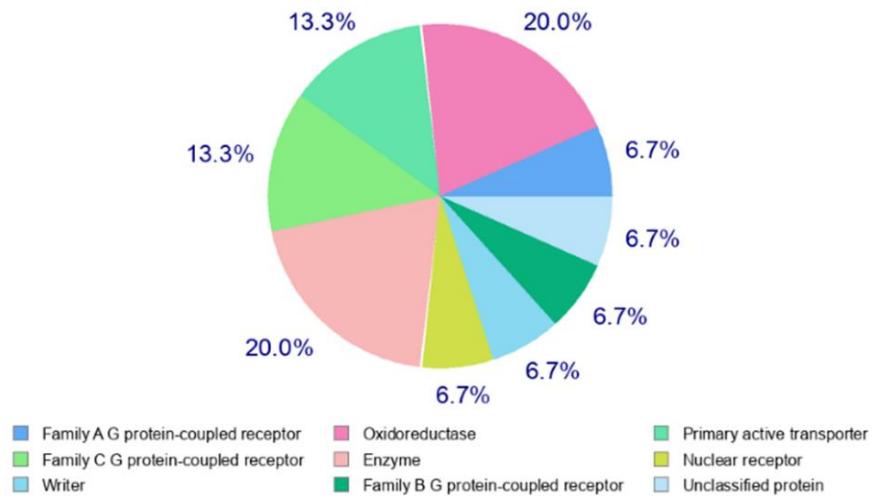


Figura 26. Predicción de blancos de las chalconas PVONA/3F (**A**) y PVINA/2Cl (**B**) realizados a través de la plataforma swiss target, en ambos casos la mayoría de los blancos predichos corresponden a enzimas.

Tabla 6. Lista de los posibles targets predichos para PVONA/3F

Target	Common name	UniprotID	ChEMBL ID	Target Class
Cadena de tubulina beta-1	TUBB1	Q9H4B7	CHEMBL1915	Proteína estructural
Miembro 2 de la subfamilia G de cassettes de unión a ATP	ABCG2	Q9UNQ0	CHEMBL5393	Metabolismo de la fenilalanina
Receptor metabotrópico de glutamato 5 (por homología)	GRM5	P41594	CHEMBL3227	Metabolismo de la histidina
Aldosa reductasa (por homología)	AKR1B1	P15121	CHEMBL1900	adicción a la cocaína
EZH2/SUZ12/EED/RBBP7/RB BP4	EZH2	Q15910	CHEMBL2189110	Malaria
Receptor metabotrópico de glutamato 1	GRM1	Q13255	CHEMBL3772	metabolismo de la tirosina
Anandamida amidohidrolasa	FAAH	O00519	CHEMBL2243	Miocarditis viral
PI3-quinasa p110-subunidad gamma	PIK3CG	P48736	CHEMBL3267	Metabolismo de la glicina, la serina y la treonina
Troponina, músculo cardíaco	TNNC1 TNNT2 TNNI3	P63316 P45379 P19429	CHEMBL2095202	Metabolismo del triptófano
Receptor quinasa 2 acoplado a proteína G	GRK2	P25098	CHEMBL4079	sinapsis serotoninérgica
Receptor metabotrópico de glutamato 2 (por homología)	GRM2	Q14416	CHEMBL5137	Migración transendotelial de leucocitos
Subunidad p65 del factor nuclear NF-kappa-B	RELA	Q04206	CHEMBL5533	secreción de bilis
15-	HPGD	P15428	CHEMBL1293255	artritis reumatoide
hidroxiprostaglandina deshidrogenasa [NAD	SCN5A	Q14524	CHEMBL1980	Infección por Staphylococcus aureus
+]	SCN9A	Q15858	CHEMBL4296	Citotoxicidad mediada por células asesinas naturales
Subunidad alfa de la proteína del canal de sodio tipo V	KCNH2	Q12809	CHEMBL240	Señalización endocannabinoide retrógrada
Subunidad alfa de la proteína del canal de sodio tipo IX	HTR1A	P08908	CHEMBL214	moléculas de adhesión celular

Tabla 7. Lista de los posibles targets predichos para PVINA/2CI

Target	Common name	UniprotID	ChEMBL ID	Target Class
Receptor de quimiocinas C-X-C tipo 4	CXCR4	P61073	CHEMBL2107	Receptor acoplado a proteína de la familia A G
Monoaminoxidasa B	MAOB	P27338	CHEMBL2039	oxidoreductasa
Subfamilia de casetes de unión a ATP G miembro 2	ABCG2	Q9UNQ0	CHEMBL5393	Transportador activo primario
glicoproteína P 1	ABCB1	P08183	CHEMBL4302	Transportador activo primario
Receptor metabotrópico de glutamato 5 (por homología)	GRM5	P41594	CHEMBL3227	Receptor acoplado a proteína de la familia C G
Anandamida amidohidrolasa	FAAH	O00519	CHEMBL2243	Enzima
Receptor de hormona tiroidea beta-1	THRB	P10828	CHEMBL1947	Rceptor nuclear
Aldosa reductasa (por homología)	AKR1B1	P15121	CHEMBL1900	Enzima
EZH2/SUZ12/EED/RBBP7/RBBP4	EZH2	Q15910	CHEMBL2189110	Escritor
Receptor metabotrópico de glutamato 2 (por homología)	GRM2	Q14416	CHEMBL5137	Receptor acoplado a proteína de la familia C G
Monoamino oxidasa A	MAOA	P21397	CHEMBL1951	Oxidoreductasa
Receptor 1 del factor liberador de corticotropina (por homología)	CRHR1	P34998	CHEMBL1800	Receptor acoplado a proteína de la familia B G
15-hidroxiprostaglandina deshidrogenasa [NAD+]	HPGD	P15428	CHEMBL1293255	Enzima
ciclooxigenasa-2	PTGS2	P35354	CHEMBL230	Oxidoreductasa
tiorredoxina	TXN	P10599	CHEMBL2010624	Proteína sin clasificar
transportador de glucosa	SLC2A1	P11166	CHEMBL2535	Transportador electroquímico
Familia de transportadores de solutos 2, miembro transportador de glucosa facilitado 3	SLC2A3	P11169	CHEMBL5215	Transportador electroquímico
Araquidonato 5-lipoxigenasa	ALOX5	P09917	CHEMBL215	Oxidoreductasa
Receptor muscarínico de acetilcolina M1	CHRM1	P11229	CHEMBL216	Receptor acoplado a proteína de la familia A G
Receptor nuclear ROR-gamma	RORC	P51449	CHEMBL1741186	Receptor nuclear
HERG	KCNH2	Q12809	CHEMBL240	Canal iónico dependiente de

				voltaje
Subunidad alfa de la proteína del canal de sodio tipo V	SCN5A	Q14524	CHEMBL1980	Canal iónico dependiente de voltaje
Molécula de adhesión intercelular (ICAM-1), integrina alfa-L/beta-2	ITGAL ICAM1 ITGB2	P20701 P05362 P05107	CHEMBL2096661	Membrana receptora
Subunidad alfa de la proteína del canal de sodio tipo IX	SCN9A	Q15858	CHEMBL4296	Canal iónico dependiente de voltaje

Después de obtener los posibles targets para ambas chalconas se realizó un análisis de enriquecimiento para observar las vías enriquecidas en las que se encontraban participando.

El análisis de la vía KEGG de PVINA/2CI reveló abundantes vías como el metabolismo de la fenilalanina, el metabolismo de la histidina, la vía de citotoxicidad mediada por células asesinas naturales (NK), el metabolismo de la tirosina y los miARN en el cáncer. (**Tab. 8 y Fig. 27**).

Las células NK son linfocitos del sistema inmunitario innato que participan en las defensas tempranas contra las células alogénicas (no propias) y las células autólogas que sufren diversas formas de estrés, como infección por virus, bacterias o parásitos o transformación maligna (Vivier et al., 2004).

En particular para esta ruta se encontró que uno de los genes enriquecidos pertenece a la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM 1/2) (**Fig. 28**), esta molécula se encuentra sobre expresada en varios tipos de cáncer (Kotteas et al., 2014; Wei et al., 2020, p. 1). Los datos experimentales indican claramente que ICAM-1 puede activar las vías de señalización intracelular en las células cancerosas, lo que conduce a una mayor motilidad celular, invasión y metástasis (Schröder et al., 2011).

Existen estudios donde se muestran que la inhibición de ICAM1 reduce la metástasis en melanoma y cáncer de pulmón (Huang, 2004; Weishaupt et al., 2019).

Tabla 8. Análisis de enriquecimiento KEG obtenido para los targets predichos de PVINA/2CI

<i>Enrichment FDR</i>	<i>Genes</i>	<i>Vías de los genes</i>	<i>Fold Enrichment</i>	<i>Vías</i>
1.5E-03	2	17	103.1	Metabolismo de la fenilalanina
2.3E-03	2	22	79.7	Metabolismo de la histidina
6.2E-04	3	49	53.7	adicción a la cocaína
6.2E-04	3	49	53.7	Malaria
4.7E-03	2	36	48.7	Metabolismo de la tirosina
7.6E-04	3	60	43.8	Miocarditis viral
5.3E-03	2	40	43.8	Metabolismo de la glicina, la serina y la treonina
5.5E-03	2	42	41.8	Metabolismo del triptófano
4.3E-04	4	112	31.3	sinapsis serotoninérgica
4.3E-04	4	114	30.8	Migración transendotelial de leucocitos
1.5E-03	3	89	29.6	secreción de bilis
1.5E-03	3	92	28.6	Artritis reumatoide
1.5E-03	3	94	28	Infección por Staphylococcus aureus
3.2E-03	3	130	20.2	Citotoxicidad mediada por células asesinas naturales
4.2E-03	3	148	17.8	Señalización endocannabinoide retrógrada
4.2E-03	3	149	17.7	moléculas de adhesión celular
4.7E-03	3	161	16.3	MicroARN en cáncer
1.5E-03	4	217	16.2	registro del citoesqueleto de actina
1.5E-03	4	222	15.8	Infección por el virus de la leucemia de células T humanas 1

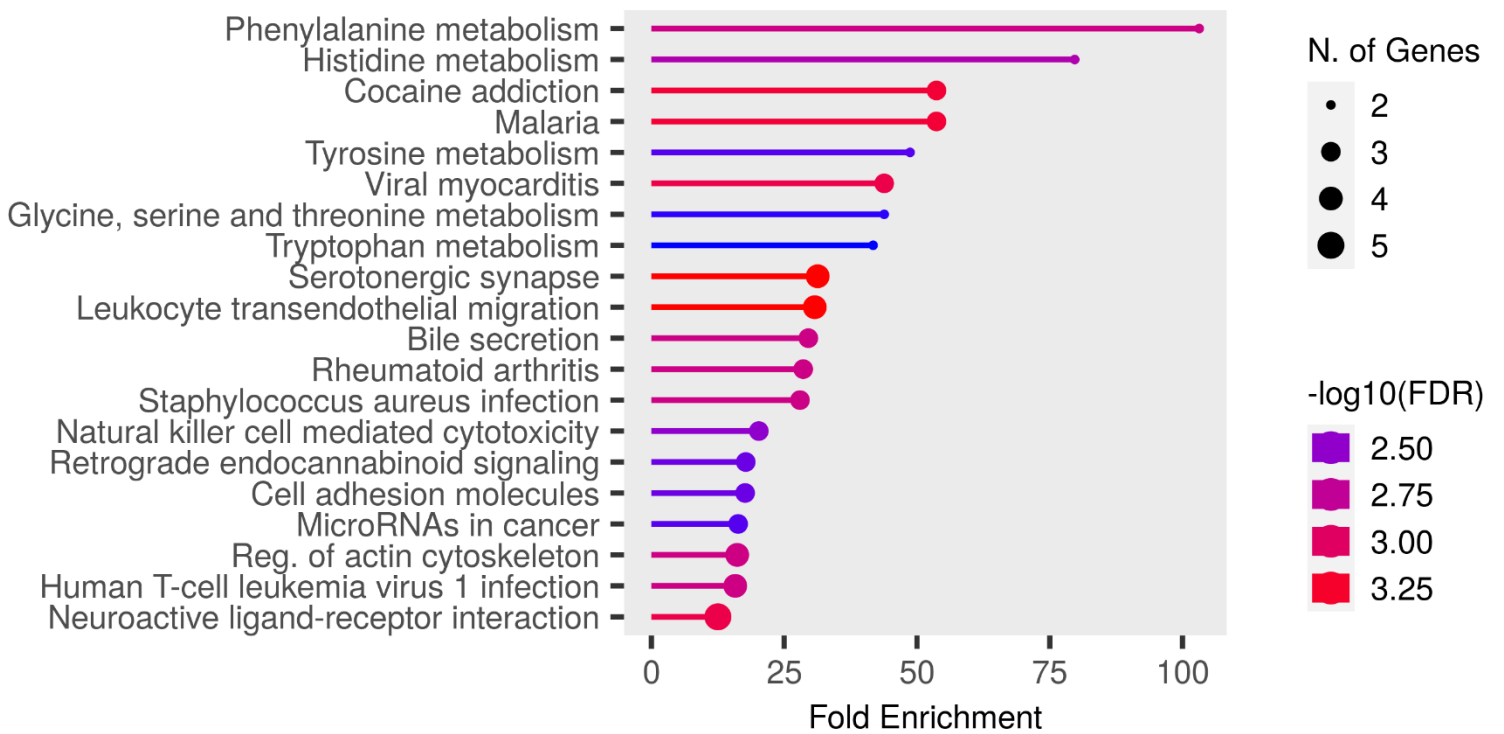


Figura 27. Análisis de enriquecimiento KEG obtenido para los targets predichos de PVINA/2CI se observa enriquecimiento en vías relacionadas con la regulación del citoesqueleto de actina al igual miRNAs en cáncer

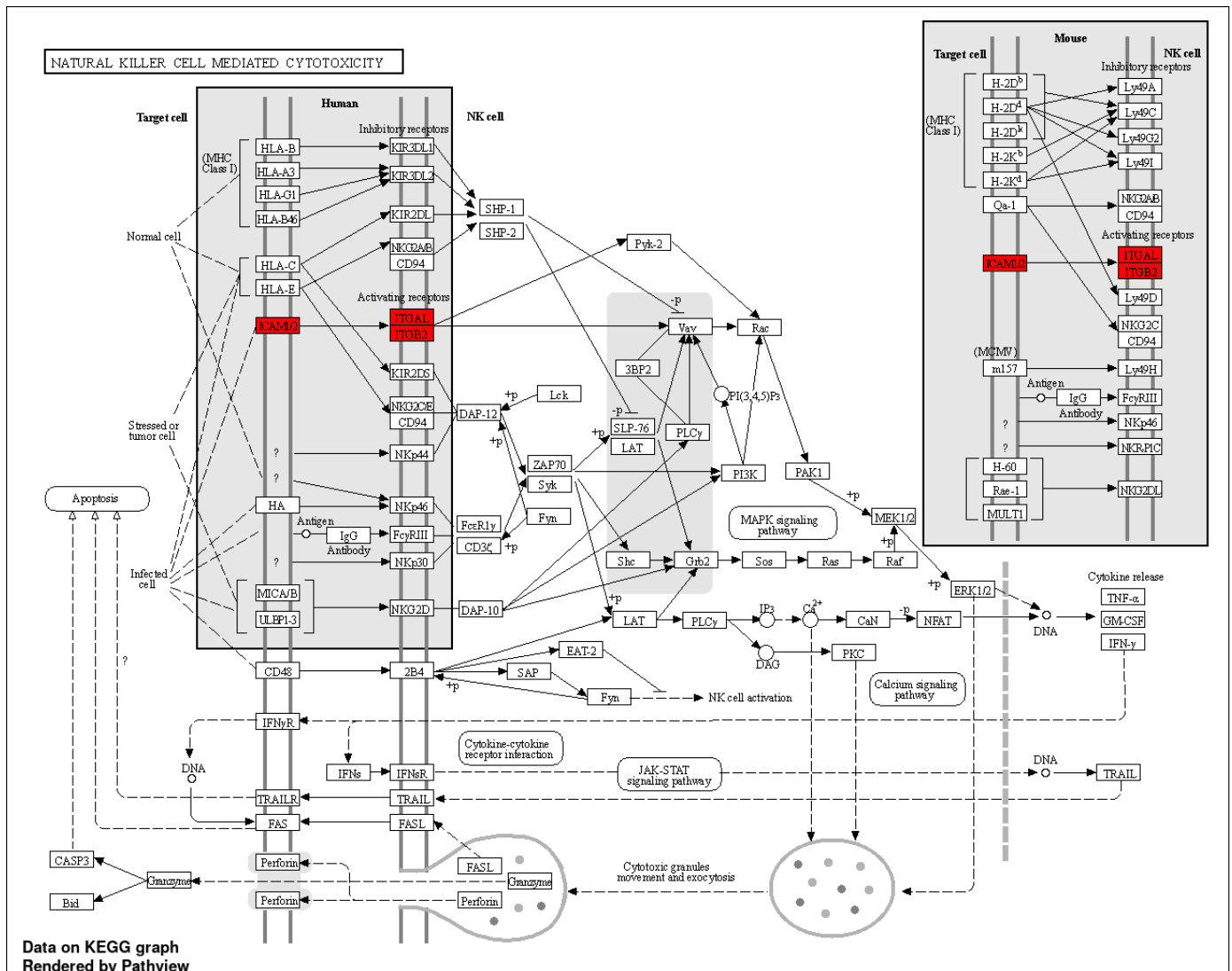


Figura 28. Vía KEGG para citotoxicidad mediada por células NK, en color rojo se muestran los posibles blancos de PVINA/2CI, ICAM/2 se encuentra relacionado con los procesos de metástasis y motilidad celular en cáncer

El análisis de enriquecimiento KEGG para la chalcona PVONA/3F mostró vías que involucran la adicción a la cocaína, la sinapsis glutamatérgica, contracción del músculo cardíaco, uniones gap, entre otras (**Tab. 9** y **Fig. 29**).

Las uniones comunicantes GAP pueden ayudar a las células cancerosas a invadir, permanecer latentes en sitios distantes de metástasis, aumentar el suministro de nutrientes y la eliminación de desechos dentro del tumor e interactuar con las células inmunitarias para escapar de la detección. Las conexinas también son más

que proteínas formadoras de poros, pero pueden participar como anclas para cascadas de señalización, actuar como factores de transcripción y pueden liberarse en las membranas de las microvesículas. Las investigaciones y revisiones de este número especial cubren muchas de estas y otras facetas de las uniones comunicantes y las conexinas en el cáncer (Ruch, 2020).

En caso de vía de unión GAP observamos que los genes que se encuentran enriquecidos y probablemente se vean afectados por el tratamiento con la chalcona PVONA/3F son el TUBB y mGluR (**Fig. 30**).

El receptor de glutamato metabotrópico 1 (mGluR1) se ha sugerido como un nuevo objetivo molecular potencial en el cáncer de mama ya que se ha visto una expresión frecuente en el cáncer de mama (Bastiaansen et al., 2020).

La tubulina clase beta 3 (TUBB) se utilizó como marcador para la detección de CPRC en un estudio de recopilación de información sobre la expresión de β III-tubulina en pacientes con cáncer de próstata resistente. Además de que la sobreexpresión de β III-tubulina se asocia con falta de respuesta a taxanos como el docetaxel en otros cánceres. (Maahs et al., 2019).

Algunos medicamentos como la avanbulina tienen como objetivo la β III-tubulina actuando como un inhibidor sintético potente de la polimerización de la tubulina que induce la muerte de las células cancerosas (Prota et al., 2014).

Este hallazgo refuerza la idea de uno de los posibles mecanismos de acción de las chalconas, el cual considera que es capaz de interactuar con los filamentos de tubulina causando la despolimerización de las mismas ocasionando muerte celular.

Tabla 9. Análisis de enriquecimiento KEG obtenido para los targets predichos de PVONA/3F

<i>Enriquecimiento FDR</i>	<i>Genes</i>	<i>Vías de los genes</i>	<i>Fold Enrichment</i>	<i>Vías</i>
6.4E-03	2	49	49	Adicción a la cocaína
9.3E-04	3	85	42.3	Transducción del gusto
1.3E-04	4	114	42.1	sinapsis glutamatérgica
9.3E-04	3	87	41.4	Contracción del músculo cardíaco
9.3E-04	3	88	40.9	Brecha de la salida
9.3E-04	3	90	40	Miocardiopatía hipertrófica
1.5E-05	5	150	40	Señalización adrenérgica en cardiomiocitos
9.9E-04	3	96	37.5	Miocardiopatía dilatada
9.8E-03	2	67	35.8	La potenciación a largo plazo
2.4E-04	4	148	32.4	Vía de señalización de la fosfolipasa D
2.8E-03	3	148	24.3	Señalización endocannabinoide retrógrada
2.4E-02	2	112	21.4	Toxoplasmosis
5.5E-03	3	191	18.8	Vía de señalización de quimioquinas
6.4E-03	3	219	16.4	vía de señalización CAMP
7.8E-03	3	240	15	Vía de señalización del calcio

<i>8.1E-03</i>	3	249	14.5	Infección por salmonela
<i>2.3E-03</i>	4	350	13.7	Interacción ligando-receptor neuroactivo
<i>5.5E-03</i>	4	475	10.1	Caminos de la neurodegeneración
<i>2.4E-02</i>	3	383	9.4	enfermedad de Alzheimer

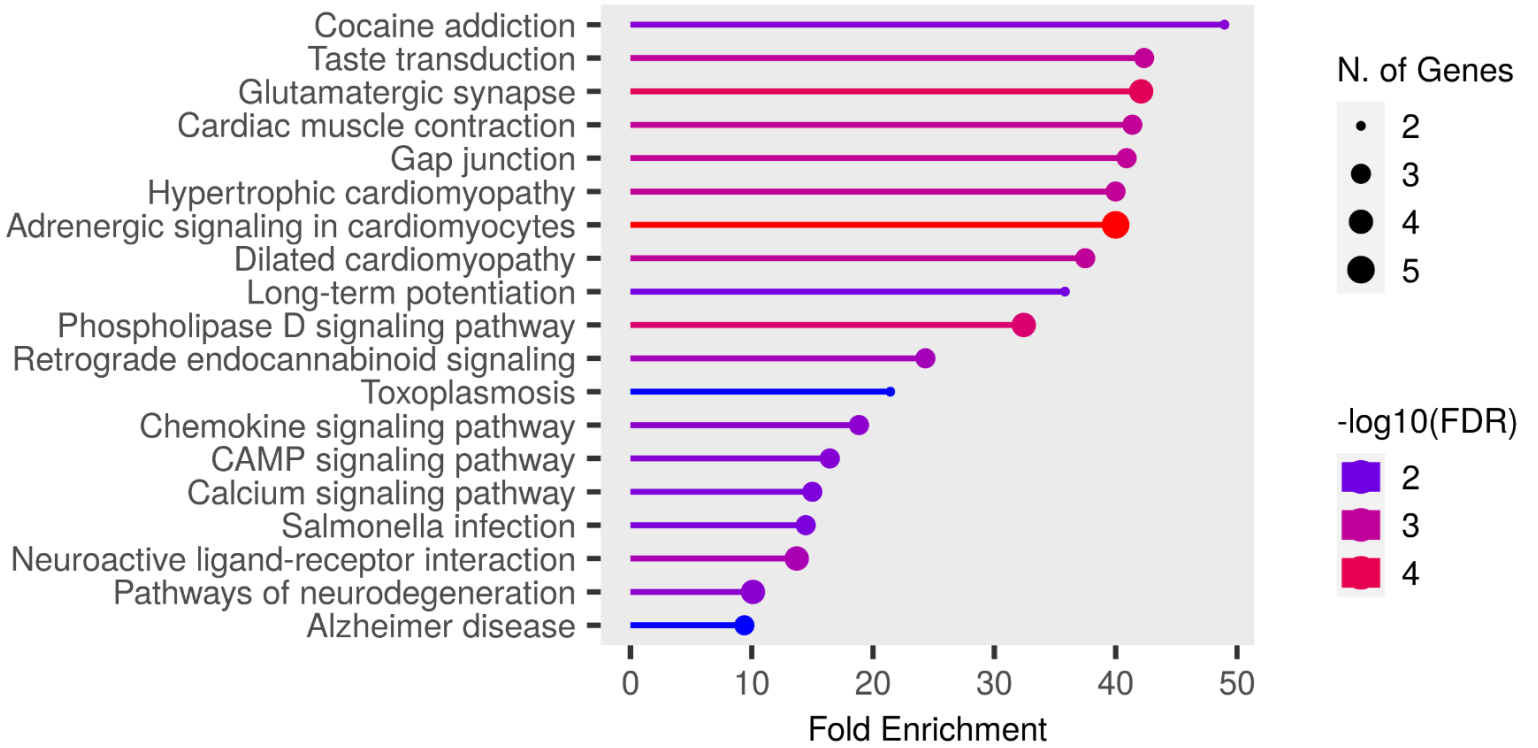


Figura 29. Análisis de enriquecimiento KEG obtenido para los targets predichos de PVONA/3F, podemos observar enriquecimiento en las vías relacionadas con las uniones GAP y señalización CAMP

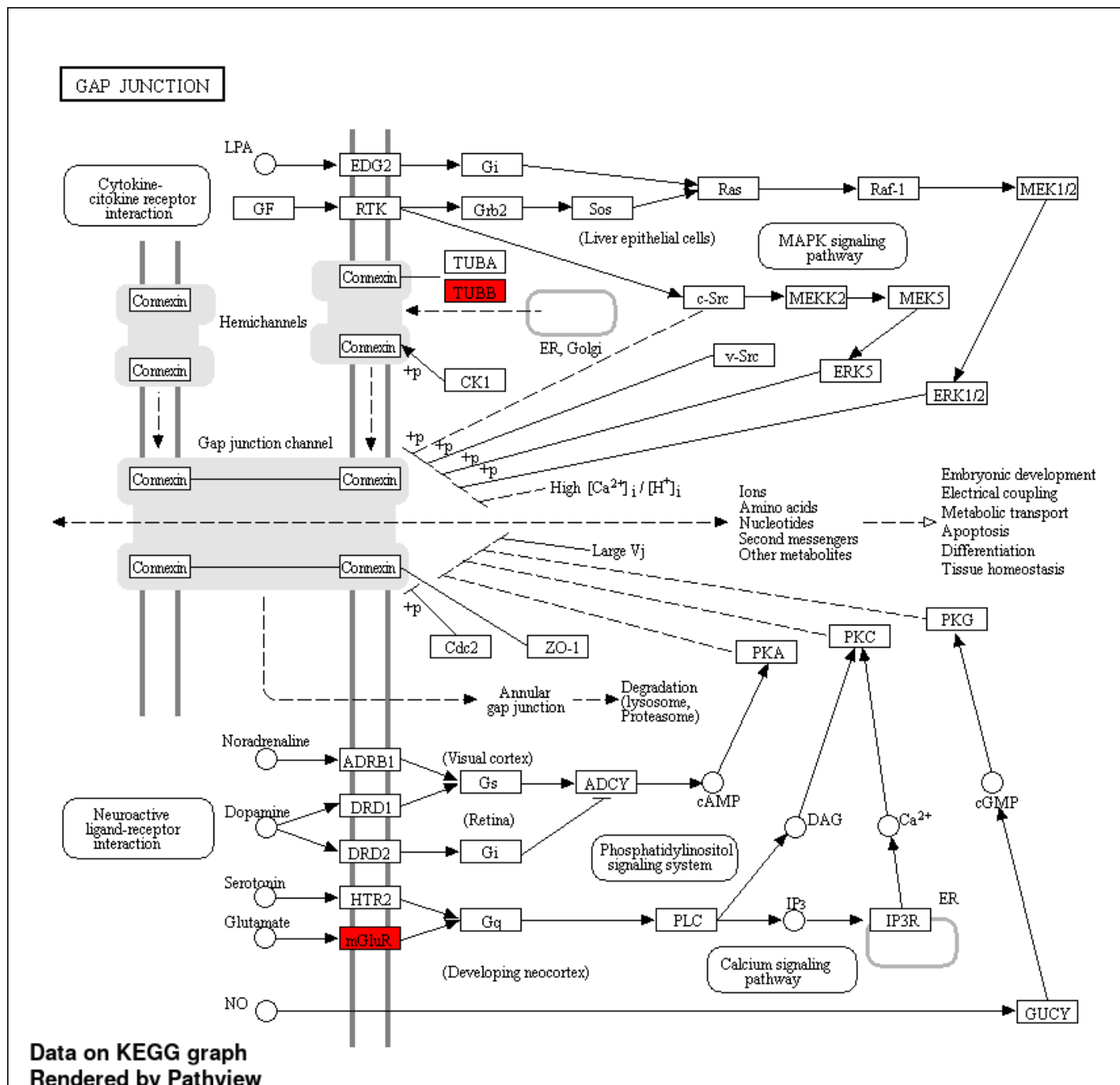


Figura 30. Vía KEGG de uniones GAP, los genes encontrados en el análisis de enriquecimiento se encuentran de color rojo, la tubulina beta 3 clase (TUBB) se ha utilizado como un marcador para detectar cáncer de próstata resistente a la castración.

Análisis de enriquecimiento vía Enrichr y oncopression.

El análisis de enriquecimiento de los blancos moleculares mostró que están asociados como marcadores celulares en diversos tipos de cáncer, entre ellos el de próstata (**Fig. 31 y 32, Tab. 10 y 11**).

Los blancos moleculares obtenidos para PVINA/2CI se mostraron como marcadores para tipos celulares de cáncer de próstata, endometrio, pulmón, entre otras (**Fig. 31**). En el caso del cáncer de próstata los marcadores moleculares fueron los genes ABCB1, CXCR4, ICAM1, ABCG2, EZH2 (**Tab. 10**), lo mismo ocurrió al observar el enriquecimiento par PVONA/3F (**Fig.32**).

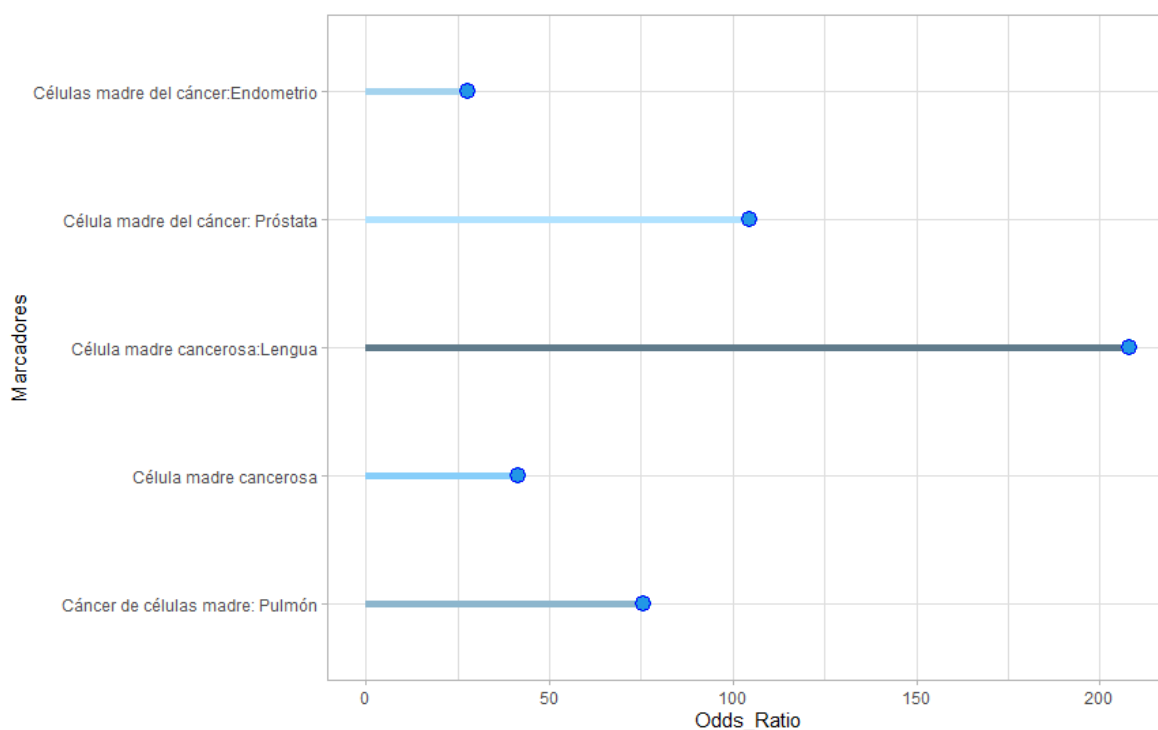


Tabla 10. Análisis de enriquecimiento para PVINA/2CI vía Enrichr usando la librería CellMarker_Augmented_2021

Término	P-value	Odds Ratio
Célula madre cancerosa	0.0000004	41.36
Célula madre del cáncer: Próstata	0.000006	104.62
Células madre del cáncer: Endometrio	0.0002	27.94
Cáncer de células madre: Pulmón	0.0004	75.43
Célula madre cancerosa: Lengua	0.006	208.03

En este caso los marcadores moleculares encontrados para células madre de cáncer de próstata fueron ABCG2 y EZH2 (**Tab. 11**).

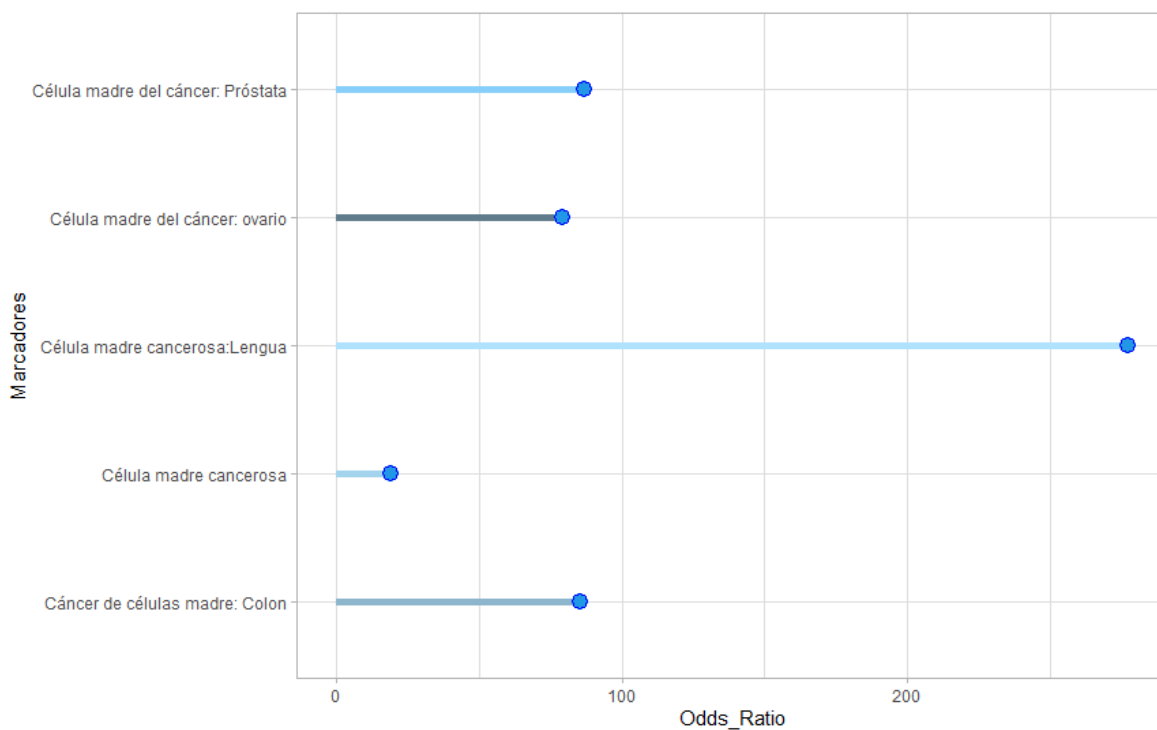


Figura 32. Análisis de enriquecimiento para PVINA/2CI vía Enrichr usando la librería CellMarker_Augmented_2021, se observa enriquecimiento en marcadores de célula madre del cáncer: Próstata.

Tabla 11. Análisis de enriquecimiento para PVONA/3F vía Enrichr usando la librería CellMarker_Augmented_2021

Término	P-value	Odds Ratio
Célula madre del cáncer: Próstata	0.0003	86.94
Célula madre cancerosa: Lengua	0.0047	277.45
Célula madre cancerosa	0.0061	18.99
Cáncer de células madre: Colon	0.013	85.33
Célula madre del cáncer: ovario	0.014	79.23

Posterior al análisis de enriquecimiento vía Enrichr, se usó la base de datos de oncopression para observar las condiciones de los marcadores en tejidos tumorales de cáncer de próstata, encontrándose todos ellos en una mayor expresión comparados con el tejido normal (**Fig. 33**)

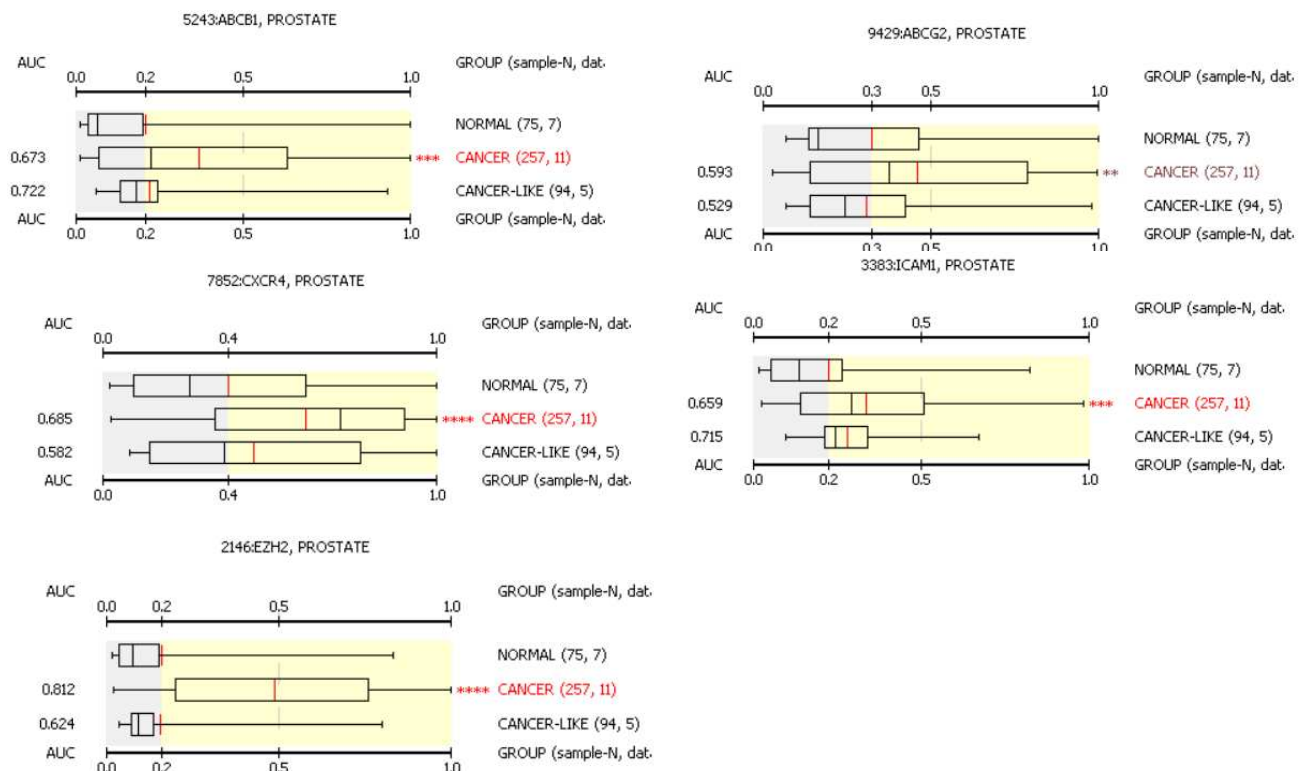


Figura 33. Expresión en tejido tumoral de cáncer de próstata y tejido normal de los genes enriquecidos detectados vía oncopression *: p-value < 0.05, **: p-value < 0.01, ***: p-value < 0.001,****: p-value < 0.0001.

Discusión

La actividad antiproliferativa *in vitro* de las chalconas preniladas se evaluó frente a dos líneas celulares de cáncer de próstata (DU 145 y PC3) utilizando el ensayo MTT. Los valores IC₅₀ de los dos mejores compuestos obtenidos después de 48 h de tratamiento se reportan en la tabla 2

Este tipo de actividad antiproliferativa de las chalconas ya se ha visto reportada en otros estudios, donde se indica que la presencia del grupo prenilo mejora la selectividad hacia las células cancerígenas (Bartmańska et al., 2018).

En este estudio el mejor efecto antiproliferativo lo presentaron las chalconas PVINA/2Cl y PVONA/3F, ya que estos compuestos tuvieron actividades distintas a sus análogos PVONA/2F y PVINA/3Cl, esto nos sugieren que la disposición del grupo funcional provoca un cambio importante en la manifestación de sus actividades biológicas. Esto se observó en otros estudios donde el uso de variantes estructurales de las chalconas, en las cuales se cambian la posición de los grupos funcionales o el grupo prenilo son determinantes para que el efecto antiproliferativo sea más débil o fuerte (Bartmańska et al., 2018; Boozari et al., 2019; Kromann et al., 2004).

Además, el cálculo del índice de selectividad proporcionó un valor igual o mayor a 1, lo cual refuerza la idea de que el grupo prenilo podría estar implicado en una mayor capacidad de selectividad por parte de las chalconas. Este tipo de observaciones han sido reportadas por otros autores, donde al observar el índice de selectividad de un grupo de chalconas preniladas contra un grupo de chalconas sin dicho grupo se observa un mejor índice de selectividad por parte del grupo prenilado (Bartmańska et al., 2018)

La inducción de la apoptosis en las células cancerosas se ha implicado como un mecanismo potencial para su tratamiento, la adquisición de la muerte celular para eludir una de las características que conducen a la transformación maligna. Existen numerosos mecanismos por los cuales las células cancerosas pueden

evadir la apoptosis. Por ejemplo, la muerte puede ser el resultado de un equilibrio alterado de proteínas pro y antiapoptóticas, disminución de la función de la caspasa y alteración de la señalización del receptor. (Wong, 2011).

Los porcentajes de células apoptóticas en etapas tempranas y posteriores se determinaron mediante citometría de flujo (**Fig. 20**). Después del tratamiento con las chalconas seleccionadas durante 48 h, los porcentajes de células apoptóticas, correspondientes a la adición de células apoptóticas tempranas y tardías, aumentaron fuertemente en ambas líneas celulares, Estos resultados son congruentes con el aumento en la población de células en apoptosis temprana y tardía reportados en otros estudios donde se usan chalconas contra líneas cancerígenas (Han et al., 2019; Z. Li et al., 2019; Rioux et al., 2021b).

Recientemente muchas moléculas nuevas que se dirigen a la apoptosis entran en varias etapas de ensayos clínicos, teniendo como blancos varias moléculas involucradas en este proceso, la mayoría son antagonistas de IAP y moléculas que tienen como objetivo a la familia de las proteínas Bcl-2.1 (Ashkenazi et al., 2017; Birkinshaw, 2021; Fulda & Vucic, 2012; L. Zhang et al., 2021). Nuestros resultados confirmaron que ambos compuestos inducen la apoptosis en etapas tempranas mediante la externalización de fosfatidilserinas en las dos líneas celulares analizadas, por lo que la búsqueda de chalconas como nuevas alternativas para el tratamiento del cáncer puede ser prometedora.

Se ha demostrado que el potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\psi_m$), el cual refleja el estado funcional de la mitocondria, está altamente relacionado con la malignidad del cáncer, estudios han mostrado que en células cancerosas este se ve incrementado en comparación con aquellas que no lo son (Bonnet et al., 2007; L. B. Chen, 1988).

Por lo tanto, se investigaron los cambios en $\Delta\psi_m$ inducidos por moléculas con potencial anticancerígeno. En general, el $\Delta\psi_m$ mitocondrial disminuye debido a la apertura del poro de transmisión (PTP). Estos PTP se forman por la unión de Bax a los transductores de nucleótidos de adenina (ANT) e inducen la despolarización de la membrana. La despolarización libera un factor apoptótico (citocromo c) y una

pérdida de fosforilación oxidativa. El lactato deshidrogenasa (LDH) suprimió la disminución del potencial de la membrana mitocondrial y el aumento de las especies reactivas de oxígeno (ROS) y los niveles de Bax. Por lo tanto, induce una mayor liberación de citocromo c, lo que finalmente conduce a la apoptosis. (Zaib et al., 2022; B. Zhang et al., 2015)

En este estudio se observó un colapso del $\Delta\psi_m$ tras el tratamiento con las chalconas PVINA/2Cl y PVONA/3F, como se esperaba, estos resultados son congruentes con lo reportado en otros estudios donde de la misma manera se reporta una reducción del PMM tras el tratamiento con las chalconas (Jin et al., 2019; Meier et al., 2019), estos resultados son consistentes con el decremento de la viabilidad presentada después de 48 horas de tratamiento con ambas chalconas.

Para determinar el efecto de las chalconas PVINA/2Cl y PVONA/3F sobre la morfología celular, evaluamos los cambios en citoesqueleto y el núcleo de las líneas celulares. Observamos cambios morfológicos producto de la interacción con las chalconas, este tipo de alteraciones morfológicas ya han sido reportadas en otros estudios donde se suministran chalconas como tratamientos para cáncer (Lee, 2011; S.-Y. Zhang et al., 2016). Dentro de los cambios reportados se encuentran afectaciones a nivel de núcleo, adopción de una forma redondeada y encogimiento de las mismas (Sathish Kumar et al., 2021).

Usando microscopía confocal, encontramos que ambas chalconas alteraron la organización de los microtúbulos en PC3 y DU 145, cuando se comparan con las células de control, las cuales poseían una red de microtúbulos bien organizada. Estos datos sugieren que ambas chalconas pueden afectar la organización de los microtúbulos en las células PC3 y DU 145, contribuyendo a la inducción de apoptosis en ambas líneas celulares.

Las propiedades ADME de las chalconas han sido investigadas por diversos autores, en los cuales se determina para la mayoría de los casos valores ADME

óptimos o cercanos a los óptimos para su uso como fármaco (Gürdere et al., 2021; Rudrapal et al., 2021).

Los resultados de los parámetros moleculares ADME y de objetivos macromoleculares predichos para la chalcona PVONA/3F y PVINA/2Cl mostraron que posee valores aptos de Lipofilicidad ($-0.7 < XLOGP3 < +5.0$), tamaño ($150\text{g/mol} < MV < 500\text{g/mol}$), polaridad ($20 \text{ A} < TPSA < 130 \text{ A}$), insolubilidad ($-6 < \text{Log S ESOL} < 0$), insaturación ($0.25 < \text{Fracción Csp3} < 1$) y flexibilidad ($0 < \text{Numero de átomos rotables} < 9$) adecuados para una buena biodisponibilidad (Fig. 5).

Las pruebas de semejanza a los fármacos fueron positivas para Lipinski, Ghose, Veber y Egan, solo se presentó una violación en los parámetros de Muege, ya que el valor de lipofilicidad en ambos casos fue ligeramente mayor a 5 XLOGP3, el cual es el valor máximo admitido (**Tabla 4 y 5**), dando un valor de 5.26 XLOGP3 para el caso de PVINA/2Cl y de 5.23 XLOGP3 para el caso de PVONA/3F. Los valores obtenidos en las pruebas de semejanza a fármacos y al igual que los parámetros farmacocinéticos sugieren que estas moléculas o alguna similar podrían ser buenas candidatas para la generación de fármacos de biodisponibilidad oral.

Un factor importante a tomar en cuenta en la búsqueda de nuevas moléculas que puedan ayudar en el tratamiento de una enfermedad, es la caracterización de los posibles blancos moleculares que estos puedan llegar a tener.

En este estudio se predijeron 15 posibles blancos moleculares para la chalcona PVONA/3F y 24 para PVINA/2Cl (**Tabla 6 y 7**), en ambos casos la mayoría de las interacciones se dan entre enzimas (**Fig. 26**). Dentro de los targets predichos se encontraron proteínas de cassette de unión a ATP (ABCG, Glicoproteína P y canal HERG) la cual es una familia conocida en la contribución de la MDR en el cáncer de próstata (S.-Z. Chen et al., 2005; Mollazadeh et al., 2018; Rapetti-Mauss et al., 2020; Sobek et al., 2017; Waghray & Zhang, 2018).

La potencial capacidad de las chalconas como inhibidores de ABCG2 ha sido evidenciado en una serie de chalconas que contienen una unidad de quinoxalina en el anillo B, los mejores efectos inhibitorios fueron producidos por compuestos que contenían al menos dos grupos metoxi en el anillo B, mientras que la sustitución de grupos atractores de electrones como Cl, Br, etc. resultó en una disminución de la actividad (Di Pietro et al., 2014), de igual forma se ha reportado inhibición de la glicoproteína P y el canal HERG por parte de un grupo de chalconas, en dichos estudios se observa que la sustitución en el anillo A con grupos 5-(1-etilpiperidin-4-ilo) y 2,4-dimetoxi aumentaban la acumulación de calceína-AM en mayor medida que el verapamilo, un inhibidor comprobado de la Pgp (Liu et al., 2008).

Otro blanco potencial de las chalconas encontrado en el análisis predictivo es la cadena de tubulina beta-1, componente importante de los microtúbulos, los cuales son estructuras celulares que se encuentran en los organismos eucariotas y son responsables de una variedad de funciones. Estas funciones incluyen mitosis, motilidad, arquitectura del citoesqueleto, transporte intracelular y secreción. El principal componente estructural de los microtúbulos es la tubulina, una molécula de proteína dimérica que consta de dos subunidades a y b similares pero no idénticas, cada una con un peso molecular de aproximadamente 55 000 Da (Desai & Mitchison, 1997; Goodson & Jonasson, 2018; Gudimchuk & McIntosh, 2021; Janke & Magiera, 2020)

Se ha reportado que las chalconas se pueden unir a la proteína microtubular tubulina evitando su polimerización, el cual es un paso esencial para la mitosis, lo que provoca una interrupción abrupta en el ensamblaje de los husos mitóticos e interfiere con la función del citoesqueleto y la mitosis se detiene (Peyrot et al., 1989, p. 27048; Vitorović-Todorović et al., 2013).

Tras obtener información sobre posibles dianas de interacción con chalconas, se realizaron caracterizaciones críticas KEGG para asignar funciones a genes o genomas a nivel molecular, las cuales se encuentran almacenadas en la base de

datos KO (KEGG Orthology)), donde cada KO se define como un ortólogo funcional de un gen y una proteína. (Kanehisa et al., 2017).

El análisis de la vía KEGG de PVINA/2CI reveló una gran cantidad de vías que incluyen el metabolismo de la fenilalanina, el metabolismo de la histidina, la vía de la citotoxicidad mediada por células asesinas naturales (NK) y el metabolismo de la tirosina. (**Fig.27**).

Las células NK son linfocitos del sistema inmunitario innato que participan en las defensas tempranas contra las células alogénicas (no propias) y las células autólogas que sufren diversas formas de estrés, como infección por virus, bacterias o parásitos o transformación maligna (Vivier et al., 2004).

Solo en esta ruta, se encontró que uno de los genes enriquecidos pertenecía a la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM 1/2). (Kotteas et al., 2014; Wei et al., 2020, p. 1). Los datos experimentales indican que ICAM-1 puede activar las vías de señalización intracelular en las células cancerosas, lo que conduce a una mayor motilidad celular, invasión y metástasis (Schröder et al., 2011).

Existen estudios donde se muestran que la inhibición de ICAM1 reduce la metástasis en melanoma y cáncer de pulmón (Huang, 2004; Weishaupt et al., 2019).

El análisis de enriquecimiento KEGG para la chalcona PVONA/3F mostró vías que involucran la adicción a la cocaína, la sinapsis glutamatérgica, contracción del músculo cardíaco, uniones gap, entre otras (**Fig. 28**).

Una de las vías de interés es la vía de uniones comunicantes GAP, ya que estas pueden ayudar a las células cancerosas a invadir, permanecer latentes en sitios distantes de metástasis, aumentar el suministro de nutrientes y la eliminación de desechos dentro del tumor e interactuar con las células inmunitarias para escapar de la detección. Las conexinas también son más que proteínas formadoras de poros, pero pueden participar como anclas para cascadas de señalización, actuar como factores de transcripción y pueden liberarse en las membranas de las micro vesículas. Las investigaciones y revisiones de este número especial cubren

muchas de estas y otras facetas de las uniones comunicantes y las conexinas en el cáncer (Ruch, 2020).

En caso de vía de unión GAP observamos que los genes que se encuentran enriquecidos y probablemente se vean afectados por el tratamiento con la chalcona PVONA/3F son el TUBB y mGluR.

El receptor de glutamato metabotrópico 1 (mGluR1) se ha sugerido como un nuevo objetivo molecular potencial en el cáncer de mama ya que se ha visto una expresión frecuente en el cáncer de mama (Bastiaansen et al., 2020).

La tubulina beta 3 clase (TUBB) se ha utilizado como un marcador para detectar CPRC, en un estudio que recopiló la información sobre la expresión de β III-tubulina en pacientes con CPRC, se observó una alta expresión de la misma, además de que la alta expresión de β III-tubulina se asocia con falta de respuesta a taxanos como el docetaxel en otros cánceres (Maahs et al., 2019).

Algunos medicamentos como la avanbulina tienen como objetivo la β III-tubulina actuando como un inhibidor sintético potente de la polimerización de la tubulina que induce la muerte de las células cancerosas (Prota et al., 2014).

Este hallazgo refuerza la idea de uno de los posibles mecanismos de acción de las chalconas, el cual considera que es capaz de interactuar con los filamentos de tubulina causando la despolimerización de las mismas ocasionando muerte celular, esto también explicaría el cambio a nivel de los filamentos de actina mostrado en el análisis morfológico realizado (L. B. Chen, 1988).

De igual manera se realizó un análisis de enriquecimiento usando la librería cáncer cell vía Enrichr, esta librería contiene información sobre la caracterización genética y química de diversas líneas celulares de cáncer usadas comúnmente para investigación (*Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE)*, s. f.). Los resultados en el caso de ambas chalconas nos mostraron que los blancos predichos se encuentran enriquecidos en diversas líneas celulares de cáncer, incluidas células madre de cáncer de próstata, posterior a esto los blancos moleculares se cotejaron en la plataforma oncopression la cual nos brinda un perfil de expresión

génica utilizando datos de micro matrices públicas en Gene Expression Omnibus (GEO) y ArrayExpress (AE) de la plataforma Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array (GPL570 en GEO y A-AFFY-44 en AE) y sus CDF personalizados (*Oncopression*, s. f.), esto con la finalidad de observar su condición en tejidos tumorales de cáncer de próstata, en todos los casos dichos blancos moleculares se encontraron sobre expresados en los tejidos tumorales.

Estos resultados concuerdan con estudios donde se usan células madre de cáncer de próstata para generar tumores esferoidales usando un modelo murino, en este estudio el uso de la chalcona flavokawain A reduce las propiedades de iniciación de tumores y troncalidad del cáncer de próstata obteniendo un efecto quimiopreventivo (Song et al., 2022).

Finalmente, se realizó un docking molecular usando los posibles blancos predichos de las chalconas relacionados con MDR, este análisis nos mostró las interacciones de la chalcona PVINA/2Cl con la Glicoproteína-P y de la chalcona PVONA/3F con el canal HERG. Como resultado del ensayo se observaron interacciones entre PVINA/2Cl y el sitio catalítico de la Glicoproteína-P, estos resultados son concordantes con estudios similares donde se han usado modelos de chalconas para inhibir de forma exitosa a dichas proteínas (Ngo et al., 2016; Yin et al., 2019)

Los puntajes de acoplamiento observados de -8.4 kcal/mol para PVINA/2Cl y de -6.7 kcal/mol para PVONA/3F son mejores o comparables que los reportados para inhibidores conocidos de la P-gp como la reserpina (-3,47 kJ mol⁻¹), elacridar (-22,86 kJ mol⁻¹), tariquidar (-13,26 kJ mol⁻¹), y saquinavir (-19,31 kJ mol⁻¹) (Le et al., 2022), lo cual nos habla del potencial que pueden llegar a tener estas chalconas como moduladores de bombas de flujo aumentando la eficacia de los fármacos suministrados para el tratamiento del CPRC.

Conclusión

La interacción de las chalconas preniladas con las células de cáncer de próstata resistentes a la castración ocasiono cambios en la viabilidad, morfología y potencial de membrana de estas células con respecto a las células de cáncer de próstata no tratadas, los ensayos *in silico* nos permitieron determinar las posibles vías de acción en las cuales se encuentran involucradas las chalconas preniladas.

En particular la chalcona PVONA/3F redujo la viabilidad de manera dosis tiempo dependiente en la línea celular PC3 hasta un 53.4% y en DU 145 hasta un 48.94% en un tiempo de 48 h, mientras que la chalcona PVINA/2CI redujo la viabilidad de PC3 hasta un 74.4% y en DU 145 hasta un 28.29% a las 48 h de tratamiento.

PVONA/3F y PVINA/2CI tuvieron actividades distintas a sus análogos PVONA/2F y PVINA/3C, lo que podría indicar que el cambio de posición del sustituyente influye en la actividad biológica de la chalcona.

Los valores de selectividad demuestran que las chalconas poseen cierta selectividad hacia las células cancerígenas.

Las chalconas PVONA/3F y PVINA/2CI reducen PMM de las células PC3 y DU 145 con respecto a las células no tratadas, además de producir un incremento de células en apoptosis en las líneas celulares PC3 y DU 145 con respecto a las células no tratadas.

El tratamiento con las chalconas PVINA/2CI y PVONA/3F provoca un cambio morfológico en las células DU 145 y PC3 perdiendo el patrón definido de los filamentos de actina y produciendo una fragmentación de la cromatina.

Los estudios *in silico* realizados para ambas chalconas PVINA/2Cl y PVONA/3F muestran que cumplen con los parámetros ADME para una buena biodisponibilidad oral, además se predijeron un total 15 posibles blancos moleculares para la chalcona PVONA/3F y 24 para PVINA/2Cl, dentro de los cuales se encontraron transportadores activos primarios relacionados con resistencia a los fármacos y otros más usados como marcadores en el cáncer de próstata como ABCB1; CXCR4; ICAM1; ABCG2; EZH2, los cuales se encuentran sobre expresados en tejidos tumorales de próstata.

Finalmente, el análisis de Docking molecular mostró interacción favorable entre PVINA/2Cl y la glicoproteína P, lo mismo ocurre para el caso de PVONA3/F y el canal HERG, lo que puede indicar que el tratamiento con estas chalconas podría ayudar en la inhibición de dichas proteínas relacionadas con la resistencia a los fármacos.

Referencias

- Aas, Z., Babaei, E., Hosseinpour Feizi, M. A., & Dehghan, G. (2015). Anti-proliferative and Apoptotic Effects of Dendrosomal Farnesiferol C on Gastric Cancer Cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 16(13), 5325-5329. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2015.16.13.5325>
- Alafnan, A., Alamri, A., Alanazi, J., & Hussain, T. (2022). Farnesiferol C Exerts Antiproliferative Effects on Hepatocellular Carcinoma HepG2 Cells by Instigating ROS-Dependent Apoptotic Pathway. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 15(9), 1070. <https://doi.org/10.3390/ph15091070>
- Antonarakis, E. S., Lu, C., Wang, H., Lubber, B., Nakazawa, M., Roeser, J. C., Chen, Y., Mohammad, T. A., Chen, Y., Fedor, H. L., Lotan, T. L., Zheng, Q., De Marzo, A. M., Isaacs, J. T., Isaacs, W. B., Nadal, R., Paller, C. J., Denmeade, S. R., Carducci, M. A., ... Luo, J. (2014). AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer. *The New England Journal of Medicine*, 371(11), 1028-1038. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1315815>
- Arsenis, N. C., You, T., Ogawa, E. F., Tinsley, G. M., & Zuo, L. (2017). Physical activity and telomere length: Impact of aging and potential mechanisms of action. *Oncotarget*, 8(27), 45008-45019. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16726>
- Ashkenazi, A., Fairbrother, W. J., Levenson, J. D., & Souers, A. J. (2017). From basic apoptosis discoveries to advanced selective BCL-2 family inhibitors. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 16(4), 273-284. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.253>

- Bajaj, S., Kumar, M. S., Peters, G., & Mayur, Y. (2020). Targeting telomerase for its advent in cancer therapeutics. *Medicinal Research Reviews*, 40(5), 1871-1919.
<https://doi.org/10.1002/med.21674>
- Barata, P. C., & Sartor, A. O. (2019). Metastatic castration-sensitive prostate cancer: Abiraterone, docetaxel, or.... *Cancer*, 125(11), 1777-1788. <https://doi.org/10.1002/cncr.32039>
- Bartmańska, A., Tronina, T., Popłoński, J., Milczarek, M., Filip-Psurska, B., & Wietrzyk, J. (2018). Highly Cancer Selective Antiproliferative Activity of Natural Prenylated Flavonoids. *Molecules*, 23(11), 2922. <https://doi.org/10.3390/molecules23112922>
- Base celular y molecular del cáncer—Hematología y oncología.* (s. f.). Manual MSD versión para profesionales. Recuperado 21 de diciembre de 2022, de <https://www.msdmanuals.com/es-mx/professional/hematolog%C3%ADa-y-oncolog%C3%ADa/generalidades-sobre-el-c%C3%A1ncer/base-celular-y-molecular-del-c%C3%A1ncer>
- Bastiaansen, A. E. M., Timmermans, A. M., Smid, M., van Deurzen, C. H. M., Hulsenboom, E. S. P., Prager-van der Smissen, W. J. C., Foekens, R., Trapman-Jansen, A. M. A. C., Sillevius Smitt, P. A. E., Luider, T. M., Martens, J. W. M., & vanDuijn, M. M. (2020). Metabotropic glutamate receptor 1 is associated with unfavorable prognosis in ER-negative and triple-negative breast cancer. *Scientific Reports*, 10(1), 22292. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79248-4>
- Bernardes de Jesus, B., & Blasco, M. A. (2013). Telomerase at the intersection of cancer and aging. *Trends in Genetics*, 29(9), 513-520. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2013.06.007>
- Birkinshaw, R. W. (2021). Challenges in small-molecule target identification: A commentary on «BDA-366, a putative Bcl-2 BH4 domain antagonist, induces apoptosis independently of

- Bcl-2 in a variety of cancer cell models». *Cell Death and Differentiation*, 28(3), 1130-1132.
<https://doi.org/10.1038/s41418-020-00717-4>
- Bonnet, S., Archer, S. L., Allalunis-Turner, J., Haromy, A., Beaulieu, C., Thompson, R., Lee, C. T., Lopaschuk, G. D., Puttagunta, L., Bonnet, S., Harry, G., Hashimoto, K., Porter, C. J., Andrade, M. A., Thebaud, B., & Michelakis, E. D. (2007). A Mitochondria-K⁺ Channel Axis Is Suppressed in Cancer and Its Normalization Promotes Apoptosis and Inhibits Cancer Growth. *Cancer Cell*, 11(1), 37-51. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.10.020>
- Boozari, M., Soltani, S., & Iranshahi, M. (2019). Biologically active prenylated flavonoids from the genus *Sophora* and their structure-activity relationship-A review: Biological activity of prenylated flavonoids from the genus *Sophora*. *Phytotherapy Research*, 33(3), 546-560.
<https://doi.org/10.1002/ptr.6265>
- Brabletz, T., Kalluri, R., Nieto, M. A., & Weinberg, R. A. (2018). EMT in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 18(2), 128-134. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.118>
- Brennan, C. A., & Garrett, W. S. (2016). Gut Microbiota, Inflammation, and Colorectal Cancer. *Annual Review of Microbiology*, 70(1), 395-411. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-102215-095513>
- Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE)*. (s. f.). Recuperado 18 de enero de 2023, de <https://sites.broadinstitute.org/ccle/>
- Cancer (IARC), T. I. A. for R. on. (s. f.). *Global Cancer Observatory*. Recuperado 22 de febrero de 2022, de <https://gco.iarc.fr/>
- Carmeliet, P. (2005). VEGF as a Key Mediator of Angiogenesis in Cancer. *Oncology*, 69(Suppl. 3), 4-10. <https://doi.org/10.1159/000088478>
- Castillejos-Molina, R. A., & Gabilondo-Navarro, F. B. (2016). Prostate cancer. *Salud Pública de México*, 58(2), 279-284. <https://doi.org/10.21149/spm.v58i2.7797>

- Castro, F., Cardoso, A. P., Gonçalves, R. M., Serre, K., & Oliveira, M. J. (2018). Interferon-Gamma at the Crossroads of Tumor Immune Surveillance or Evasion. *Frontiers in Immunology*, *9*, 847. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00847>
- Chandrasekar, T., Yang, J. C., Gao, A. C., & Evans, C. P. (2015). Mechanisms of resistance in castration-resistant prostate cancer (CRPC). *Translational Andrology and Urology*, *4*(3), 365-380. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2223-4683.2015.05.02>
- Chang, A. J., Autio, K. A., Roach, M., & Scher, H. I. (2014). High-risk prostate cancer-classification and therapy. *Nature Reviews. Clinical Oncology*, *11*(6), 308-323. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2014.68>
- Chen, L. B. (1988). Mitochondrial Membrane Potential in Living Cells. *Annual Review of Cell Biology*, *4*(1), 155-181. <https://doi.org/10.1146/annurev.cb.04.110188.001103>
- Chen, S.-Z., Jiang, M., & Zhen, Y.-S. (2005). [Correlation of HERG K⁺ channel protein expression to chemosensitivity of tumor cells to doxorubicin and its modulation by erythromycin]. *Ai Zheng = Aizheng = Chinese Journal of Cancer*, *24*(8), 924-929.
- Chi, P., Allis, C. D., & Wang, G. G. (2010). Covalent histone modifications—Miswritten, misinterpreted and mis-erased in human cancers. *Nature Reviews Cancer*, *10*(7), 457-469. <https://doi.org/10.1038/nrc2876>
- Choi, D., Park, J. C., Lee, H. N., Moon, J.-H., Ahn, H., Park, K., & Hong, J. (2018). In Vitro Osteogenic Differentiation and Antibacterial Potentials of Chalcone Derivatives. *Molecular Pharmaceutics*, *15*(8), 3197-3204. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b00288>
- Coussens, L. M., & Werb, Z. (2002). Inflammation and cancer. *Nature*, *420*(6917), 860-867. <https://doi.org/10.1038/nature01322>
- Culig, Z., & Santer, F. R. (2014). Androgen receptor signaling in prostate cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, *33*(2-3), 413-427. <https://doi.org/10.1007/s10555-013-9474-0>

- Dai, C., Heemers, H., & Sharifi, N. (2017). Androgen Signaling in Prostate Cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 7(9), a030452.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a030452>
- Davey, R. A., & Grossmann, M. (2016). Androgen Receptor Structure, Function and Biology: From Bench to Bedside. *The Clinical Biochemist. Reviews*, 37(1), 3-15.
- De, C. J. M., Caño, V. J., Aragón, C. J., Andrés, B. G., Herranz, A. F., & Hernández, F. C. (2018). CÁNCER DE PRÓSTATA LOCALMENTE AVANZADO. DEFINICIÓN, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO. *Archivos Españoles de Urología*, 71(3), Article 3.
- de Souza, P. S., Bibá, G. C. C., Melo, E. D. do N., & Muzitano, M. F. (2022). Chalcones against the hallmarks of cancer: A mini-review. *Natural Product Research*, 36(18), 4809-4826.
<https://doi.org/10.1080/14786419.2021.2000980>
- De Vitis, M., Berardinelli, F., & Sgura, A. (2018). Telomere Length Maintenance in Cancer: At the Crossroad between Telomerase and Alternative Lengthening of Telomeres (ALT). *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2), 606.
<https://doi.org/10.3390/ijms19020606>
- Dembic, Z. (2020). Antitumor Drugs and Their Targets. *Molecules*, 25(23), 5776.
<https://doi.org/10.3390/molecules25235776>
- Desai, A., & Mitchison, T. J. (1997). Microtubule polymerization dynamics. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 13, 83-117. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.13.1.83>
- Detección del cáncer | Cancer.Net.* (s. f.). Recuperado 9 de noviembre de 2022, de <https://www.cancer.net/es/desplazarse-por-atenci%C3%B3n-del-c%C3%A1ncer/prevenci%C3%B3n-y-vida-saludable/detecci%C3%B3n-del-c%C3%A1ncer>
- DeVita, V. T., Lawrence, T. S., & Rosenberg, S. A. (Eds.). (2019). *DeVita, Hellman, and Rosenberg's cancer: Principles & practice of oncology* (11th edition). Wolters Kluwer.

- Di Pietro, A., Chiaradia-Delatorre, L. D., Gauthier, C., Mascarello, A., Yunes, R. A., Nunes, R. J., Crecynski-Pasa, T. B., Leal, P. C., Winter, E., Gozzi, G., Daflon-Yunes, N., Terreux, R., & Cadena, S. (2014). Quinoxaline-substituted chalcones as new inhibitors of breast cancer resistance protein ABCG2: Polyspecificity at B-ring position. *Drug Design, Development and Therapy*, 609. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S56625>
- Dole, E. J., & Holdsworth, M. T. (1997). Nilutamide: An antiandrogen for the treatment of prostate cancer. *The Annals of Pharmacotherapy*, 31(1), 65-75. <https://doi.org/10.1177/106002809703100112>
- Dunn, G. P., Bruce, A. T., Ikeda, H., Old, L. J., & Schreiber, R. D. (2002). Cancer immunoediting: From immunosurveillance to tumor escape. *Nature Immunology*, 3(11), 991-998. <https://doi.org/10.1038/ni1102-991>
- Dunn, G. P., Old, L. J., & Schreiber, R. D. (2004). The Immunobiology of Cancer Immunosurveillance and Immunoediting. *Immunity*, 21(2), 137-148. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2004.07.017>
- Ebina, W., & Rossi, D. J. (2015). Transcription factor-mediated reprogramming toward hematopoietic stem cells. *The EMBO Journal*, 34(6), 694-709. <https://doi.org/10.15252/emj.201490804>
- Esteller, M. (2007). Epigenetic gene silencing in cancer: The DNA hypermethylome. *Human Molecular Genetics*, 16(R1), R50-R59. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm018>
- Feinberg, A. P. (2018). The Key Role of Epigenetics in Human Disease Prevention and Mitigation. *New England Journal of Medicine*, 378(14), 1323-1334. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1402513>
- Feng, Q., & He, B. (2019). Androgen Receptor Signaling in the Development of Castration-Resistant Prostate Cancer. *Frontiers in Oncology*, 9, 858. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00858>

- Fernandes, N. A. R., Camilli, A. C., Maldonado, L. A. G., Pacheco, C. G. P., Silva, A. F., Molon, R. S., Spolidorio, L. C., Ribeiro de Assis, L., Regasini, L. O., Rossa Junior, C., & Guimarães-Stabili, M. R. (2021). Chalcone T4, a novel chalconic compound, inhibits inflammatory bone resorption in vivo and suppresses osteoclastogenesis in vitro. *Journal of Periodontal Research*, *56*(3), 569-578. <https://doi.org/10.1111/jre.12857>
- Fulda, S., & Vucic, D. (2012). Targeting IAP proteins for therapeutic intervention in cancer. *Nature Reviews. Drug Discovery*, *11*(2), 109-124. <https://doi.org/10.1038/nrd3627>
- Gamat, M., & McNeel, D. G. (2017). Androgen deprivation and immunotherapy for the treatment of prostate cancer. *Endocrine-Related Cancer*, *24*(12), T297-T310. <https://doi.org/10.1530/ERC-17-0145>
- Gao, Y., Yang, J., Cai, Y., Fu, S., Zhang, N., Fu, X., & Li, L. (2018). IFN- γ -mediated inhibition of lung cancer correlates with PD-L1 expression and is regulated by PI3K-AKT signaling: IFN- γ in lung adenocarcinoma. *International Journal of Cancer*, *143*(4), 931-943. <https://doi.org/10.1002/ijc.31357>
- Gîngu, C., Heidenreich, A., Andreşanu, A., Mihancea, A., Sinescu, I., & Baston, C. (2020). Treatment of the primary in metastatic prostate cancer. *Current Opinion in Urology*, *30*(4), 566-575. <https://doi.org/10.1097/MOU.0000000000000779>
- Girisa, S., Saikia, Q., Bordoloi, D., Banik, K., Monisha, J., Daimary, U. D., Verma, E., Ahn, K. S., & Kunnumakkara, A. B. (2021). Xanthohumol from Hop: Hope for cancer prevention and treatment. *IUBMB Life*, *73*(8), 1016-1044. <https://doi.org/10.1002/iub.2522>
- Goodson, H. V., & Jonasson, E. M. (2018). Microtubules and Microtubule-Associated Proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *10*(6), a022608. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022608>

- Gopalakrishnan, V., Spencer, C. N., Nezi, L., Reuben, A., Andrews, M. C., Karpinets, T. V., Prieto, P. A., Vicente, D., Hoffman, K., Wei, S. C., Cogdill, A. P., Zhao, L., Hudgens, C. W., Hutchinson, D. S., Manzo, T., Petaccia de Macedo, M., Cotechini, T., Kumar, T., Chen, W. S., ... Wargo, J. A. (2018). Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science*, 359(6371), 97-103. <https://doi.org/10.1126/science.aan4236>
- Gottesman, M. M. (2002). Mechanisms of Cancer Drug Resistance. *Annual Review of Medicine*, 53(1), 615-627. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.53.082901.103929>
- Graham, T. A., & Sottoriva, A. (2017). Measuring cancer evolution from the genome: Measuring cancer evolution. *The Journal of Pathology*, 241(2), 183-191. <https://doi.org/10.1002/path.4821>
- Gritsko, T., Williams, A., Turkson, J., Kaneko, S., Bowman, T., Huang, M., Nam, S., Eweis, I., Diaz, N., Sullivan, D., Yoder, S., Enkemann, S., Eschrich, S., Lee, J.-H., Beam, C. A., Cheng, J., Minton, S., Muro-Cacho, C. A., & Jove, R. (2006). Persistent Activation of Stat3 Signaling Induces Survivin Gene Expression and Confers Resistance to Apoptosis in Human Breast Cancer Cells. *Clinical Cancer Research*, 12(1), 11-19. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-1752>
- Guazelli, C. F. S., Fattori, V., Ferraz, C. R., Borghi, S. M., Casagrande, R., Baracat, M. M., & Verri, W. A. (2021). Antioxidant and anti-inflammatory effects of hesperidin methyl chalcone in experimental ulcerative colitis. *Chemico-Biological Interactions*, 333, 109315. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.109315>
- Gudimchuk, N. B., & McIntosh, J. R. (2021). Regulation of microtubule dynamics, mechanics and function through the growing tip. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 22(12), 777-795. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00399-x>

- Gupta, P. B., Chaffer, C. L., & Weinberg, R. A. (2009). Cancer stem cells: Mirage or reality? *Nature Medicine*, *15*(9), 1010-1012. <https://doi.org/10.1038/nm0909-1010>
- Gürdere, M. B., Budak, Y., Kocyigit, U. M., Taslimi, P., Tüzün, B., & Ceylan, M. (2021). ADME properties, bioactivity and molecular docking studies of 4-amino-chalcone derivatives: New analogues for the treatment of Alzheimer, glaucoma and epileptic diseases. *In Silico Pharmacology*, *9*(1), 34. <https://doi.org/10.1007/s40203-021-00094-x>
- Haendler, B. (2002). Androgen-selective gene regulation in the prostate. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *56*(2), 78-83. [https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(01\)00159-7](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(01)00159-7)
- Halliday, M., Radford, H., Zents, K. A. M., Molloy, C., Moreno, J. A., Verity, N. C., Smith, E., Ortori, C. A., Barrett, D. A., Bushell, M., & Mallucci, G. R. (2017). Repurposed drugs targeting eIF2 α -P-mediated translational repression prevent neurodegeneration in mice. *Brain: A Journal of Neurology*, *140*(6), 1768-1783. <https://doi.org/10.1093/brain/awx074>
- Han, X., Peng, B., Xiao, B.-B., Sheng-Li Cao, Yang, C.-R., Wang, W.-Z., Wang, F.-C., Li, H.-Y., Yuan, X.-L., Shi, R., Liao, J., Wang, H., Li, J., & Xu, X. (2019). Synthesis and evaluation of chalcone analogues containing a 4-oxoquinazolin-2-yl group as potential anti-tumor agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *162*, 586-601. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.11.034>
- Hanahan, D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discovery*, *12*(1), 31-46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The Hallmarks of Cancer. *Cell*, *100*(1), 57-70. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81683-9)
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, *144*(5), 646-674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>

- Hasanzadeh, D., Mahdavi, M., Dehghan, G., & Charoudeh, H. N. (2017). Farnesiferol C induces cell cycle arrest and apoptosis mediated by oxidative stress in MCF-7 cell line. *Toxicology Reports*, 4, 420-426. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.07.010>
- Hellerstedt, B. A., & Pienta, K. J. (2002). The current state of hormonal therapy for prostate cancer. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 52(3), 154-179. <https://doi.org/10.3322/canjclin.52.3.154>
- Hernandez-Segura, A., Nehme, J., & Demaria, M. (2018). Hallmarks of Cellular Senescence. *Trends in Cell Biology*, 28(6), 436-453. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2018.02.001>
- Hinz, B., & Lagares, D. (2020). Evasion of apoptosis by myofibroblasts: A hallmark of fibrotic diseases. *Nature Reviews Rheumatology*, 16(1), 11-31. <https://doi.org/10.1038/s41584-019-0324-5>
- Holohan, C., Van Schaeybroeck, S., Longley, D. B., & Johnston, P. G. (2013). Cancer drug resistance: An evolving paradigm. *Nature Reviews Cancer*, 13(10), 714-726. <https://doi.org/10.1038/nrc3599>
- Hou, S., Zhou, S., Qin, Z., Yang, L., Han, X., Yao, S., & Ji, H. (2017). Evidence, Mechanism, and Clinical Relevance of the Transdifferentiation from Lung Adenocarcinoma to Squamous Cell Carcinoma. *The American Journal of Pathology*, 187(5), 954-962. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2017.01.009>
- Huang, W.-C. (2004). Inhibition of ICAM-1 gene expression, monocyte adhesion and cancer cell invasion by targeting IKK complex: Molecular and functional study of novel -methylene- -butyrolactone derivatives. *Carcinogenesis*, 25(10), 1925-1934. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgh211>
- Huggins, C., & Hodges, C. V. (2002). Studies on prostatic cancer: I. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the

prostate. 1941. *The Journal of Urology*, 168(1), 9-12. [https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(05\)64820-3](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(05)64820-3)

James, S., Aparna, J. S., Babu, A., Paul, A. M., Lankadasari, M. B., Athira, S. R., Kumar, S. S., Vijayan, Y., Namitha, N. N., Mohammed, S., Reshmi, G., & Harikumar, K. B. (2021). Cardamonin Attenuates Experimental Colitis and Associated Colorectal Cancer. *Biomolecules*, 11(5), 661. <https://doi.org/10.3390/biom11050661>

Janke, C., & Magiera, M. M. (2020). The tubulin code and its role in controlling microtubule properties and functions. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 21(6), 307-326. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0214-3>

Jasek, K., Kubatka, P., Samec, M., Liskova, A., Smejkal, K., Vybohova, D., Bugos, O., Biskupska-Bodova, K., Bielik, T., Zubor, P., Danko, J., Adamkov, M., Kwon, T. K., & Büsselberg, D. (2019). DNA Methylation Status in Cancer Disease: Modulations by Plant-Derived Natural Compounds and Dietary Interventions. *Biomolecules*, 9(7), 289. <https://doi.org/10.3390/biom9070289>

Jin, J., Qiu, S., Wang, P., Liang, X., Huang, F., Wu, H., Zhang, B., Zhang, W., Tian, X., Xu, R., Shi, H., & Wu, X. (2019). Cardamonin inhibits breast cancer growth by repressing HIF-1 α -dependent metabolic reprogramming. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR*, 38(1), 377. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1351-4>

Kamecki, F., Knez, D., Carvalho, D., Marcucci, C., Rademacher, M., Higgs, J., Žakelj, S., Marcos, A., de Tezanos Pinto, F., Abin-Carriquiry, J. A., Gobec, S., Colettis, N., & Marder, M. (2021). Multitarget 2'-hydroxychalcones as potential drugs for the treatment of neurodegenerative disorders and their comorbidities. *Neuropharmacology*, 201, 108837. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108837>

- Kanehisa, M., Furumichi, M., Tanabe, M., Sato, Y., & Morishima, K. (2017). KEGG: New perspectives on genomes, pathways, diseases and drugs. *Nucleic Acids Research*, *45*(D1), D353-D361. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1092>
- Kasckow, J., Mulchahey, J. J., Aguilera, G., Pisarska, M., Nikodemova, M., Chen, H.-C., Herman, J. P., Murphy, E. K., Liu, Y., Rizvi, T. A., Dautzenberg, F. M., & Sheriff, S. (2003). Corticotropin-Releasing Hormone (CRH) Expression and Protein Kinase A Mediated CRH Receptor Signalling in an Immortalized Hypothalamic Cell Line: CRH signalling in immortalized hypothalamic cells. *Journal of Neuroendocrinology*, *15*(5), 521-529. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2826.2003.01026.x>
- Kelland, L. (2007). Targeting the Limitless Replicative Potential of Cancer: The Telomerase/Telomere Pathway: Fig. 1. *Clinical Cancer Research*, *13*(17), 4960-4963. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-0422>
- Keough, M. B., & Monje, M. (2022). Neural Signaling in Cancer. *Annual Review of Neuroscience*, *45*(1), 199-221. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-111020-092702>
- Kerbel, R. S. (2000). Tumor angiogenesis: Past, present and the near future. *Carcinogenesis*, *21*(3), 505-515. <https://doi.org/10.1093/carcin/21.3.505>
- Khattar, E., & Tergaonkar, V. (2017). Transcriptional Regulation of Telomerase Reverse Transcriptase (TERT) by MYC. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *5*. <https://doi.org/10.3389/fcell.2017.00001>
- Kim, Y. K., & Kim, W.-J. (2009). Epigenetic markers as promising prognosticators for bladder cancer: Epigenetic alterations in bladder cancer. *International Journal of Urology*, *16*(1), 17-22. <https://doi.org/10.1111/j.1442-2042.2008.02143.x>

- Kirby, M., Hirst, C., & Crawford, E. D. (2011). Characterising the castration-resistant prostate cancer population: A systematic review: The Epidemiology of CRPC. *International Journal of Clinical Practice*, 65(11), 1180-1192. <https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2011.02799.x>
- Komura, K., Sweeney, C. J., Inamoto, T., Ibuki, N., Azuma, H., & Kantoff, P. W. (2018). Current treatment strategies for advanced prostate cancer. *International Journal of Urology: Official Journal of the Japanese Urological Association*, 25(3), 220-231. <https://doi.org/10.1111/iju.13512>
- Konidala, S. K., Kotra, V., Danduga, R. C. S. R., & Kola, P. K. (2020). Coumarin-chalcone hybrids targeting insulin receptor: Design, synthesis, anti-diabetic activity, and molecular docking. *Bioorganic Chemistry*, 104, 104207. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104207>
- Kostopoulou, I., Tzani, A., Polyzos, N.-I., Karadendrou, M.-A., Kritsi, E., Pontiki, E., Liargkova, T., Hadjipavlou-Litina, D., Zoumpoulakis, P., & Detsi, A. (2021). Exploring the 2'-Hydroxy-Chalcone Framework for the Development of Dual Antioxidant and Soybean Lipoxygenase Inhibitory Agents. *Molecules*, 26(9), 2777. <https://doi.org/10.3390/molecules26092777>
- Kotteas, E. A., Boulas, P., Gkiozos, I., Tsagkouli, S., Tsoukalas, G., & Syrigos, K. N. (2014). The intercellular cell adhesion molecule-1 (icam-1) in lung cancer: Implications for disease progression and prognosis. *Anticancer Research*, 34(9), 4665-4672.
- Kromann, H., Larsen, M., Boesen, T., Schønning, K., & Nielsen, S. F. (2004). Synthesis of prenylated benzaldehydes and their use in the synthesis of analogues of licochalcone A. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 39(11), 993-1000. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2004.07.004>
- Le, M.-T., Trinh, D.-T. T., Ngo, T.-D., Tran-Nguyen, V.-K., Nguyen, D.-N., Hoang, T., Nguyen, H.-M., Do, T.-G.-S., Mai, T. T., Tran, T.-D., & Thai, K.-M. (2022). Chalcone Derivatives as Potential

- Inhibitors of P-Glycoprotein and NorA: An In Silico and In Vitro Study. *BioMed Research International*, 2022, 9982453. <https://doi.org/10.1155/2022/9982453>
- Lee, S.-A. (2011). Modulation of signaling between TM4SF5 and integrins in tumor microenvironment. *Frontiers in Bioscience*, 16(1), 1752. <https://doi.org/10.2741/3818>
- Li, T., Kang, G., Wang, T., & Huang, H. (2018). Tumor angiogenesis and anti-angiogenic gene therapy for cancer (Review). *Oncology Letters*. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8733>
- Li, X., Jin, L., Ma, Y., Jiang, Z., Tang, H., & Tong, X. (2022). Xanthohumol inhibits non-small cell lung cancer by activating PUMA-mediated apoptosis. *Toxicology*, 470, 153141. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2022.153141>
- Li, Z., Zhang, L., Gao, M., Han, M., Liu, K., Zhang, Z., Gong, Z., Xing, L., Shi, X., Lu, K., & Gao, H. (2019). RETRACTED ARTICLE: Endoplasmic reticulum stress triggers Xanthoangelol-induced protective autophagy via activation of JNK/c-Jun Axis in hepatocellular carcinoma. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 38(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s13046-018-1012-z>
- Liu, X.-L., Tee, H.-W., & Go, M.-L. (2008). Functionalized chalcones as selective inhibitors of P-glycoprotein and breast cancer resistance protein. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16(1), 171-180. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.10.006>
- Lu, C., Ward, P. S., Kapoor, G. S., Rohle, D., Turcan, S., Abdel-Wahab, O., Edwards, C. R., Khanin, R., Figueroa, M. E., Melnick, A., Wellen, K. E., O'Rourke, D. M., Berger, S. L., Chan, T. A., Levine, R. L., Mellinghoff, I. K., & Thompson, C. B. (2012). IDH mutation impairs histone demethylation and results in a block to cell differentiation. *Nature*, 483(7390), 474-478. <https://doi.org/10.1038/nature10860>

- Lu, J., Tan, M., & Cai, Q. (2015). The Warburg effect in tumor progression: Mitochondrial oxidative metabolism as an anti-metastasis mechanism. *Cancer Letters*, *356*(2), 156-164.
<https://doi.org/10.1016/j.canlet.2014.04.001>
- Luo, Y., Wu, W., Zha, D., Zhou, W., Wang, C., Huang, J., Chen, S., Yu, L., Li, Y., Huang, Q., Zhang, J., & Zhang, C. (2021). Synthesis and biological evaluation of novel ligustrazine-chalcone derivatives as potential anti-triple negative breast cancer agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *47*, 128230. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.128230>
- Maahs, L., Sanchez, B. E., Gupta, N., Van Harn, M., Barrack, E. R., Reddy, P.-V., & Hwang, C. (2019). Class III β -tubulin expression as a predictor of docetaxel-resistance in metastatic castration-resistant prostate cancer. *PLoS One*, *14*(10), e0222510.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222510>
- Magnon, C., Hall, S. J., Lin, J., Xue, X., Gerber, L., Freedland, S. J., & Frenette, P. S. (2013). Autonomic Nerve Development Contributes to Prostate Cancer Progression. *Science*, *341*(6142), 1236361. <https://doi.org/10.1126/science.1236361>
- Mansinho, A., Macedo, D., Fernandes, I., & Costa, L. (2018). Castration-Resistant Prostate Cancer: Mechanisms, Targets and Treatment. En H. Schatten (Ed.), *Molecular & Diagnostic Imaging in Prostate Cancer* (Vol. 1126, pp. 117-133). Springer International Publishing.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-99286-0_7
- Meier, D., Hernández, M. V., van Geelen, L., Muharini, R., Proksch, P., Bandow, J. E., & Kalscheuer, R. (2019). The plant-derived chalcone Xanthoangelol targets the membrane of Gram-positive bacteria. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, *27*(23), 115151.
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.115151>
- Melincovici, C. S., Boşca, A. B., Şuşman, S., Mărginean, M., Mişu, C., Istrate, M., Moldovan, I. M., Roman, A. L., & Mişu, C. M. (2018). Vascular endothelial growth factor (VEGF)—Key factor

in normal and pathological angiogenesis. *Romanian Journal of Morphology and Embryology = Revue Roumaine De Morphologie Et Embryologie*, 59(2), 455-467.

Mezu-Ndubuisi, O. J., & Maheshwari, A. (2021). The role of integrins in inflammation and angiogenesis. *Pediatric Research*, 89(7), 1619-1626. <https://doi.org/10.1038/s41390-020-01177-9>

Mir Seyed Nazari, P., Riedl, J., Pabinger, I., & Ay, C. (2018). The role of podoplanin in cancer-associated thrombosis. *Thrombosis Research*, 164, S34-S39. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2018.01.020>

Mohammad, R. M., Muqbil, I., Lowe, L., Yedjou, C., Hsu, H.-Y., Lin, L.-T., Siegelin, M. D., Fimognari, C., Kumar, N. B., Dou, Q. P., Yang, H., Samadi, A. K., Russo, G. L., Spagnuolo, C., Ray, S. K., Chakrabarti, M., Morre, J. D., Coley, H. M., Honoki, K., ... Azmi, A. S. (2015). Broad targeting of resistance to apoptosis in cancer. *Seminars in Cancer Biology*, 35, S78-S103. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2015.03.001>

Mollazadeh, S., Sahebkar, A., Hadizadeh, F., Behravan, J., & Arabzadeh, S. (2018). Structural and functional aspects of P-glycoprotein and its inhibitors. *Life Sciences*, 214, 118-123. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.10.048>

Nawaz, J., Rasul, A., Shah, M. A., Hussain, G., Riaz, A., Sarfraz, I., Zafar, S., Adnan, M., Khan, A. H., & Selamoglu, Z. (2020). Cardamonin: A new player to fight cancer via multiple cancer signaling pathways. *Life Sciences*, 250, 117591. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117591>

Nevedomskaya, E., Baumgart, S., & Haendler, B. (2018). Recent Advances in Prostate Cancer Treatment and Drug Discovery. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(5), 1359. <https://doi.org/10.3390/ijms19051359>

- Ngo, T.-D., Tran, T.-D., Le, M.-T., & Thai, K.-M. (2016). Computational predictive models for P-glycoprotein inhibition of in-house chalcone derivatives and drug-bank compounds. *Molecular Diversity*, 20(4), 945-961. <https://doi.org/10.1007/s11030-016-9688-5>
- Nguyen, D. X., Bos, P. D., & Massagué, J. (2009). Metastasis: From dissemination to organ-specific colonization. *Nature Reviews Cancer*, 9(4), 274-284. <https://doi.org/10.1038/nrc2622>
- O'Donnell, J. S., Teng, M. W. L., & Smyth, M. J. (2019). Cancer immunoediting and resistance to T cell-based immunotherapy. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 16(3), 151-167. <https://doi.org/10.1038/s41571-018-0142-8>
- Okamura, K., Harada, T., Wang, S., Ijichi, K., Furuyama, K., Koga, T., Okamoto, T., Takayama, K., Yano, T., & Nakanishi, Y. (2012). Expression of TrkB and BDNF is associated with poor prognosis in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 78(1), 100-106. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2012.07.011>
- Oncopression*. (s. f.). Recuperado 5 de diciembre de 2022, de <http://www.oncopression.com/>
- Openda, Y. I., Babu, B., & Nyokong, T. (2022). Novel cationic-chalcone phthalocyanines for photodynamic therapy eradication of *S. aureus* and *E. coli* bacterial biofilms and MCF-7 breast cancer. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 38, 102863. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2022.102863>
- Ouyang, Y., Li, J., Chen, X., Fu, X., Sun, S., & Wu, Q. (2021). Chalcone Derivatives: Role in Anticancer Therapy. *Biomolecules*, 11(6), 894. <https://doi.org/10.3390/biom11060894>
- Pardridge, W. M. (2012). Drug Transport across the Blood–Brain Barrier. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 32(11), 1959-1972. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.126>
- Patrikidou, A., Lorient, Y., Eymard, J.-C., Albiges, L., Massard, C., Ileana, E., Di Palma, M., Escudier, B., & Fizazi, K. (2014). Who dies from prostate cancer? *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 17(4), 348-352. <https://doi.org/10.1038/pcan.2014.35>

- Peyrot, V., Leynadier, D., Sarrazin, M., Briand, C., Rodriguez, A., Nieto, J. M., & Andreu, J. M. (1989). Interaction of tubulin and cellular microtubules with the new antitumor drug MDL 27048. *Journal of Biological Chemistry*, 264(35), 21296-21301. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)30078-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)30078-X)
- Pienta, K. J., & Smith, D. C. (2005). Advances in prostate cancer chemotherapy: A new era begins. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 55(5), 300-318; quiz 323-325. <https://doi.org/10.3322/canjclin.55.5.300>
- Popli Deepika Bablani, Keya Sircar, & Aman Chowdhry. (s. f.). *Telomerase: An exploration toward the end of cancer*. https://doi.org/10.4103/ijdr.IJDR_690_16
- Prota, A. E., Danel, F., Bachmann, F., Bargsten, K., Buey, R. M., Pohlmann, J., Reinelt, S., Lane, H., & Steinmetz, M. O. (2014). The Novel Microtubule-Destabilizing Drug BAL27862 Binds to the Colchicine Site of Tubulin with Distinct Effects on Microtubule Organization. *Journal of Molecular Biology*, 426(8), 1848-1860. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2014.02.005>
- Quintanilla, M., Montero-Montero, L., Renart, J., & Martín-Villar, E. (2019). Podoplanin in Inflammation and Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3), E707. <https://doi.org/10.3390/ijms20030707>
- Raghav, K., Liu, S., Overman, M. J., Willett, A. F., Knafelz, M., Fu, S.-C., Malpica, A., Prasad, S., Royal, R. E., Scally, C. P., Mansfield, P. F., Wistuba, I. I., Futreal, A. P., Maru, D. M., Solis Soto, L. M., Parra Cuentas, E. R., Chen, H., Villalobos, P., Verma, A., ... Halperin, D. M. (2021). Efficacy, Safety, and Biomarker Analysis of Combined PD-L1 (Atezolizumab) and VEGF (Bevacizumab) Blockade in Advanced Malignant Peritoneal Mesothelioma. *Cancer Discovery*, 11(11), 2738-2747. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-0331>

- Ramjiawan, R. R., Griffioen, A. W., & Duda, D. G. (2017). Anti-angiogenesis for cancer revisited: Is there a role for combinations with immunotherapy? *Angiogenesis*, *20*(2), 185-204.
<https://doi.org/10.1007/s10456-017-9552-y>
- Rapetti-Mauss, R., Berenguier, C., Allegrini, B., & Soriani, O. (2020). Interplay Between Ion Channels and the Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway in Cancers. *Frontiers in Pharmacology*, *11*, 525020. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.525020>
- Raudenská, M., Balvan, J., & Masařík, M. (2021). Cell death in head and neck cancer pathogenesis and treatment. *Cell Death & Disease*, *12*(2), 192. <https://doi.org/10.1038/s41419-021-03474-5>
- Rioux, B., Pinon, A., Gamond, A., Martin, F., Laurent, A., Champavier, Y., Barette, C., Liagre, B., Fagnère, C., Sol, V., & Pouget, C. (2021a). Synthesis and biological evaluation of chalcone-polyamine conjugates as novel vectorized agents in colorectal and prostate cancer chemotherapy. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *222*, 113586.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113586>
- Rioux, B., Pinon, A., Gamond, A., Martin, F., Laurent, A., Champavier, Y., Barette, C., Liagre, B., Fagnère, C., Sol, V., & Pouget, C. (2021b). Synthesis and biological evaluation of chalcone-polyamine conjugates as novel vectorized agents in colorectal and prostate cancer chemotherapy. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *222*, 113586.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113586>
- Rocha, J. E., de Freitas, T. S., da Cunha Xavier, J., Pereira, R. L. S., Pereira, F. N., Nogueira, C. E. S., Marinho, M. M., Bandeira, P. N., Fernandes, M. A. A., Marinho, E. S., Teixeira, A. M. R., Dos Santos, H. S., & Coutinho, H. D. M. (2021). Synthesis, antibiotic modifying activity, ADMET study and molecular docking of chalcone (E)-3-(2,4-dichlorophenyl)-1-(2-

- hydroxyphenyl)prop-2-en-1-one in strains of *Staphylococcus aureus* carrying MepA efflux pumps. *Archives of Microbiology*, 204(1), 63. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02666-z>
- Roy, P. S., & Saikia, B. J. (2016). Cancer and cure: A critical analysis. *Indian Journal of Cancer*, 53(3), 441. <https://doi.org/10.4103/0019-509X.200658>
- Ruch, R. (2020). Gap Junctions and Connexins in Cancer Formation, Progression, and Therapy. *Cancers*, 12(11), E3307. <https://doi.org/10.3390/cancers12113307>
- Rudrapal, M., Khan, J., Dukhyil, A. A. B., Alarousy, R. M. I. I., Attah, E. I., Sharma, T., Khairnar, S. J., & Bendale, A. R. (2021). Chalcone Scaffolds, Bioprecursors of Flavonoids: Chemistry, Bioactivities, and Pharmacokinetics. *Molecules*, 26(23), 7177. <https://doi.org/10.3390/molecules26237177>
- Saloman, J. L., Albers, K. M., Li, D., Hartman, D. J., Crawford, H. C., Muha, E. A., Rhim, A. D., & Davis, B. M. (2016). Ablation of sensory neurons in a genetic model of pancreatic ductal adenocarcinoma slows initiation and progression of cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(11), 3078-3083. <https://doi.org/10.1073/pnas.1512603113>
- Santos, M. M. M., & Moreira, R. (2007). Michael acceptors as cysteine protease inhibitors. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 7(10), 1040-1050. <https://doi.org/10.2174/138955707782110105>
- Santucci, C., Carioli, G., Bertuccio, P., Malvezzi, M., Pastorino, U., Boffetta, P., Negri, E., Bosetti, C., & La Vecchia, C. (2020). Progress in cancer mortality, incidence, and survival: A global overview. *European Journal of Cancer Prevention*, 29(5), 367-381. <https://doi.org/10.1097/CEJ.0000000000000594>
- Sathish Kumar, K., Kotra, V., Phani Kumar Kola, Praveena Devi, Ch. B., Anusha, N., Hari Babu, B., Adil, S. F., Shaik, M. R., Khan, M., Al-Warthan, A., Alduhaish, O., & Mujahid Alam, M.

- (2021). ZnCl₂ catalyzed new coumarinyl-chalcones as cytotoxic agents. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 386-394. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.020>
- Schatten, H. (2018). Brief Overview of Prostate Cancer Statistics, Grading, Diagnosis and Treatment Strategies. En H. Schatten (Ed.), *Cell & Molecular Biology of Prostate Cancer* (Vol. 1095, pp. 1-14). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-95693-0_1
- Scher, H. I., & Sawyers, C. L. (2005). Biology of Progressive, Castration-Resistant Prostate Cancer: Directed Therapies Targeting the Androgen-Receptor Signaling Axis. *Journal of Clinical Oncology*, 23(32), 8253-8261. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.03.4777>
- Schreiber, R. D., Old, L. J., & Smyth, M. J. (2011). Cancer Immunoediting: Integrating Immunity's Roles in Cancer Suppression and Promotion. *Science*, 331(6024), 1565-1570. <https://doi.org/10.1126/science.1203486>
- Schröder, C., Witzel, I., Müller, V., Krenkel, S., Wirtz, R. M., Jänicke, F., Schumacher, U., & Milde-Langosch, K. (2011). Prognostic value of intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 expression in breast cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 137(8), 1193-1201. <https://doi.org/10.1007/s00432-011-0984-2>
- Senga, S. S., & Grose, R. P. (2021). Hallmarks of cancer—The new testament. *Open Biology*, 11(1), 200358. <https://doi.org/10.1098/rsob.200358>
- Shay, J. W., & Wright, W. E. (2000). Hayflick, his limit, and cellular ageing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 1(1), 72-76. <https://doi.org/10.1038/35036093>
- Sobek, K. M., Cummings, J. L., Bacich, D. J., & O'Keefe, D. S. (2017). Contrasting roles of the ABCG2 Q141K variant in prostate cancer. *Experimental Cell Research*, 354(1), 40-47. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2017.03.020>

- Sobhani, N., Neeli, P. K., D'Angelo, A., Pittacolo, M., Sirico, M., Galli, I. C., Roviello, G., & Nesi, G. (2021). AR-V7 in Metastatic Prostate Cancer: A Strategy beyond Redemption. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5515. <https://doi.org/10.3390/ijms22115515>
- Song, L., Mino, M., Yamak, J., Nguyen, V., Lopez, D., Pham, V., Fazelpour, A., Le, V., Fu, D., Tippin, M., Uchio, E., & Zi, X. (2022). Flavokawain A Reduces Tumor-Initiating Properties and Stemness of Prostate Cancer. *Frontiers in Oncology*, 12, 943846. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.943846>
- Sporn, M. B. (1996). The war on cancer. *The Lancet*, 347(9012), 1377-1381. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)91015-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)91015-6)
- Srivastava, S., Koay, E. J., Borowsky, A. D., De Marzo, A. M., Ghosh, S., Wagner, P. D., & Kramer, B. S. (2019). Cancer overdiagnosis: A biological challenge and clinical dilemma. *Nature Reviews. Cancer*, 19(6), 349-358. <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0142-8>
- Stoletov, K., Beatty, P. H., & Lewis, J. D. (2020). Novel therapeutic targets for cancer metastasis. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 20(2), 97-109. <https://doi.org/10.1080/14737140.2020.1718496>
- Suhail, Y., Cain, M. P., Vanaja, K., Kurywchak, P. A., Levchenko, A., Kalluri, R., & Kshitiz. (2019). Systems Biology of Cancer Metastasis. *Cell Systems*, 9(2), 109-127. <https://doi.org/10.1016/j.cels.2019.07.003>
- Sun, S., Sprenger, C. C. T., Vessella, R. L., Haugk, K., Soriano, K., Mostaghel, E. A., Page, S. T., Coleman, I. M., Nguyen, H. M., Sun, H., Nelson, P. S., & Plymate, S. R. (2010). Castration resistance in human prostate cancer is conferred by a frequently occurring androgen receptor splice variant. *Journal of Clinical Investigation*, 120(8), 2715-2730. <https://doi.org/10.1172/JCI41824>

- Suzuki-Inoue, K. (2019). Platelets and cancer-associated thrombosis: Focusing on the platelet activation receptor CLEC-2 and podoplanin. *Blood*, *134*(22), 1912-1918.
<https://doi.org/10.1182/blood.2019001388>
- Sydes, M. R., Spears, M. R., Mason, M. D., Clarke, N. W., Dearnaley, D. P., de Bono, J. S., Attard, G., Chowdhury, S., Cross, W., Gillessen, S., Malik, Z. I., Jones, R., Parker, C. C., Ritchie, A. W. S., Russell, J. M., Millman, R., Matheson, D., Amos, C., Gilson, C., ... STAMPEDE Investigators. (2018). Adding abiraterone or docetaxel to long-term hormone therapy for prostate cancer: Directly randomised data from the STAMPEDE multi-arm, multi-stage platform protocol. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, *29*(5), 1235-1248. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy072>
- Tannock, I. F., de Wit, R., Berry, W. R., Horti, J., Pluzanska, A., Chi, K. N., Oudard, S., Théodore, C., James, N. D., Turesson, I., Rosenthal, M. A., Eisenberger, M. A., & TAX 327 Investigators. (2004). Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *The New England Journal of Medicine*, *351*(15), 1502-1512.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa040720>
- Teo, M. Y., Rathkopf, D. E., & Kantoff, P. (2019). Treatment of Advanced Prostate Cancer. *Annual Review of Medicine*, *70*, 479-499. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-051517-011947>
- Thapa, P., Upadhyay, S. P., Suo, W. Z., Singh, V., Gurung, P., Lee, E. S., Sharma, R., & Sharma, M. (2021). Chalcone and its analogs: Therapeutic and diagnostic applications in Alzheimer's disease. *Bioorganic Chemistry*, *108*, 104681. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.104681>
- The Hallmarks of Cancer: 4 – Limitless Replicative Potential*. (s. f.). Scientific American Blog Network. Recuperado 21 de diciembre de 2022, de <https://blogs.scientificamerican.com/guest-blog/the-hallmarks-of-cancer-4-limitless-replicative-potential/>

- Thiery, J. P. (2002). Epithelial–mesenchymal transitions in tumour progression. *Nature Reviews Cancer*, 2(6), 442-454. <https://doi.org/10.1038/nrc822>
- Thiery, J. P., Acloque, H., Huang, R. Y. J., & Nieto, M. A. (2009). Epithelial-Mesenchymal Transitions in Development and Disease. *Cell*, 139(5), 871-890. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.11.007>
- Tonini, T., Rossi, F., & Claudio, P. P. (2003). Molecular basis of angiogenesis and cancer. *Oncogene*, 22(42), 6549-6556. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206816>
- Trein, M. R., Rodrigues e Oliveira, L., Rigo, G. V., Garcia, M. A. R., Petro-Silveira, B., da Silva Trentin, D., Macedo, A. J., Regasini, L. O., & Tasca, T. (2019). Anti-Trichomonas vaginalis activity of chalcone and amino-analogues. *Parasitology Research*, 118(2), 607-615. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-6164-4>
- Vasan, N., Baselga, J., & Hyman, D. M. (2019). A view on drug resistance in cancer. *Nature*, 575(7782), 299-309. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1730-1>
- Vesaghamedani, S., Ebrahimzadeh, F., Najafi, E., Shabgah, O. G., Askari, E., Shabgah, A. G., Mohammadi, H., Jadidi-Niaragh, F., & Navashenaq, J. G. (2022). Xanthohumol: An underestimated, while potent and promising chemotherapeutic agent in cancer treatment. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 172, 3-14. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2022.04.002>
- Viallard, C., & Larrivé, B. (2017). Tumor angiogenesis and vascular normalization: Alternative therapeutic targets. *Angiogenesis*, 20(4), 409-426. <https://doi.org/10.1007/s10456-017-9562-9>
- Vinarov, Z., Abdallah, M., Agundez, J. A. G., Allegaert, K., Basit, A. W., Braeckmans, M., Ceulemans, J., Corsetti, M., Griffin, B. T., Grimm, M., Keszthelyi, D., Koziol, M., Madla, C. M., Matthys, C., McCoubrey, L. E., Mitra, A., Reppas, C., Stappaerts, J., Steenackers, N., ...

- Augustijns, P. (2021). Impact of gastrointestinal tract variability on oral drug absorption and pharmacokinetics: An UNGAP review. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 162, 105812. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2021.105812>
- Vitorović-Todorović, M. D., Erić-Nikolić, A., Kolundžija, B., Hamel, E., Ristić, S., Juranić, I. O., & Drakulić, B. J. (2013). (E)-4-Aryl-4-oxo-2-butenoic acid amides, chalcone–aroylacrylic acid chimeras: Design, antiproliferative activity and inhibition of tubulin polymerization. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 62, 40-50. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.01.006>
- Vivier, E., Nunès, J. A., & Vély, F. (2004). Natural Killer Cell Signaling Pathways. *Science*, 306(5701), 1517-1519. <https://doi.org/10.1126/science.1103478>
- Waghray, D., & Zhang, Q. (2018). Inhibit or Evade Multidrug Resistance P-Glycoprotein in Cancer Treatment. *Journal of Medicinal Chemistry*, 61(12), 5108-5121. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01457>
- Wang, L., Yang, X., Zhang, Y., Chen, R., Cui, Y., & Wang, Q. (2019). Anti-inflammatory Chalcone–Isoflavone Dimers and Chalcone Dimers from *Caragana jubata*. *Journal of Natural Products*, 82(10), 2761-2767. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b00365>
- Wang, Y., Sušac, L., & Feigon, J. (2019). Structural Biology of Telomerase. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 11(12), a032383. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a032383>
- Wei, H., Wang, Z., Kuang, Y., Wu, Z., Zhao, S., Zhang, Z., Li, H., Zheng, M., Zhang, N., Long, C., Guo, W., Nie, C., Yang, H., & Tong, A. (2020). Intercellular Adhesion Molecule-1 as Target for CAR-T-Cell Therapy of Triple-Negative Breast Cancer. *Frontiers in Immunology*, 11, 573823. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.573823>
- Weishaupt, C., Steinert, M., Brunner, G., Schulze, H., Fuhlbrigge, R. C., Goerge, T., & Loser, K. (2019). Activation of human vascular endothelium in melanoma metastases induces ICAM

- 1 and E-selectin expression and results in increased infiltration with effector lymphocytes. *Experimental Dermatology*, 28(11), 1258-1269. <https://doi.org/10.1111/exd.14023>
- Welday Kahssay, S., Hailu, G. S., & Taye Desta, K. (2021). Design, Synthesis, Characterization and in vivo Antidiabetic Activity Evaluation of Some Chalcone Derivatives. *Drug Design, Development and Therapy*, Volume 15, 3119-3129. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S316185>
- Wong, R. S. (2011). Apoptosis in cancer: From pathogenesis to treatment. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 30(1), 87. <https://doi.org/10.1186/1756-9966-30-87>
- Xu, X., Lai, Y., & Hua, Z.-C. (2019). Apoptosis and apoptotic body: Disease message and therapeutic target potentials. *Bioscience Reports*, 39(1), BSR20180992. <https://doi.org/10.1042/BSR20180992>
- Ye, Y., Yang, Z., & Lei, J. (2019). Stochastic Telomere Shortening and the Route to Limitless Replicative Potential. *Journal of Computational Biology*, 26(4), 350-363. <https://doi.org/10.1089/cmb.2018.0234>
- Yin, H., Dong, J., Cai, Y., Shi, X., Wang, H., Liu, G., Tang, Y., Liu, J., & Ma, L. (2019). Design, synthesis and biological evaluation of chalcones as reversers of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 180, 350-366. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.05.053>
- Yu, L.-X., Yan, H.-X., Liu, Q., Yang, W., Wu, H.-P., Dong, W., Tang, L., Lin, Y., He, Y.-Q., Zou, S.-S., Wang, C., Zhang, H.-L., Cao, G.-W., Wu, M.-C., & Wang, H.-Y. (2010). Endotoxin accumulation prevents carcinogen-induced apoptosis and promotes liver tumorigenesis in rodents. *Hepatology*, 52(4), 1322-1333. <https://doi.org/10.1002/hep.23845>

- Zaib, S., Hayyat, A., Ali, N., Gul, A., Naveed, M., & Khan, I. (2022). Role of Mitochondrial Membrane Potential and Lactate Dehydrogenase A in Apoptosis. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 22(11), 2048-2062. <https://doi.org/10.2174/1871520621666211126090906>
- Zeeshan, R., & Mutahir, Z. (2017). Cancer metastasis—Tricks of the trade. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*. <https://doi.org/10.17305/bjbms.2017.1908>
- Zhang, B., Wang, D., Guo, F., & Xuan, C. (2015). Mitochondrial membrane potential and reactive oxygen species in cancer stem cells. *Familial Cancer*, 14(1), 19-23. <https://doi.org/10.1007/s10689-014-9757-9>
- Zhang, L., Lu, Z., & Zhao, X. (2021). Targeting Bcl-2 for cancer therapy. *Biochimica Et Biophysica Acta. Reviews on Cancer*, 1876(1), 188569. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2021.188569>
- Zhang, S.-Y., Fu, D.-J., Yue, X.-X., Liu, Y.-C., Song, J., Sun, H.-H., Liu, H.-M., & Zhang, Y.-B. (2016). Design, Synthesis and Structure-Activity Relationships of Novel Chalcone-1,2,3-triazole-azole Derivates as Antiproliferative Agents. *Molecules*, 21(5), 653. <https://doi.org/10.3390/molecules21050653>
- Zhang, W., Chen, H., Ding, L., Gong, J., Zhang, M., Guo, W., Xu, P., Li, S., & Zhang, Y. (2021). Trojan Horse Delivery of 4,4'-Dimethoxychalcone for Parkinsonian Neuroprotection. *Advanced Science*, 8(9), 2004555. <https://doi.org/10.1002/adv.202004555>
- Zhang, X., Rakesh, K. P., Bukhari, S. N. A., Balakrishna, M., Manukumar, H. M., & Qin, H.-L. (2018). Multi-targetable chalcone analogs to treat deadly Alzheimer's disease: Current view and upcoming advice. *Bioorganic Chemistry*, 80, 86-93. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.06.009>
- Zhang, X.-W., Zhao, D.-H., Quan, Y.-C., Sun, L.-P., Yin, X.-M., & Guan, L.-P. (2010). Synthesis and evaluation of antiinflammatory activity of substituted chalcone derivatives. *Medicinal Chemistry Research*, 19(4), 403-412. <https://doi.org/10.1007/s00044-009-9202-z>

Zhou, J., Ding, D., Wang, M., & Cong, Y.-S. (2014). Telomerase reverse transcriptase in the regulation of gene expression. *BMB Reports*, *47*(1), 8-14.

<https://doi.org/10.5483/bmbrep.2014.47.1.284>

Zhuang, C., Zhang, W., Sheng, C., Zhang, W., Xing, C., & Miao, Z. (2017). Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. *Chemical Reviews*, *117*(12), 7762-7810.

<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00020>



Sociedad Mexicana de
Bioquímica A.C.

65
años
1957-2022

SACRAMENTO NO. 413
COL. INSURGENTES BORJA
DEL. BENITO JUÁREZ
CP. 03100
CDMX
TEL. (55)56225742
WWW.SMB.ORG.MX
FACEBOOK:
facebook.com/RedSMB

MESA DIRECTIVA 2021-2023

PRESIDENTA

Dra. Soledad María Teresa Hernández
Sotomayor

VICEPRESIDENTE

Dr. Agustín Guerrero Hernández

SECRETARIA TESORERA

Dra. Bertha María Josefina González Pedrajo

SUBSECRETARIA TESORERA

Dra. María de Lourdes Girard Cuesy

SOCIOS FUNDADORES

Dr. Barbarín Arreguín Lozano
Dr. Edmundo Calva Cuadrilla
Dr. Guillermo Cervajal Sandoval
Dr. Joaquín Cravioto
Dr. Carlos del Río Estrada
Dr. Silvestre Frenk Freund
Dr. Mario García Hernández
Dr. Jesús Guzmán García
Dr. Jesús Kumate Rodríguez
Dr. José Laguna García
Dr. Guillermo Massieu Helguera
Dr. Raúl Ondarza Vidaumeta
Dr. Efraín G. Pardo Codina
Dr. Guillermo Soberón Acevedo

Se otorga la presente

CONSTANCIA a:

Marcos Morales Reyna

Quien asistió y presentó el trabajo:

Determination of the effect of prenylated chalcones on the membrane potential, apoptosis and metabolome of castration-resistant cells in prostate cancer

Por: Marcos Morales Reyna, José C. Espinoza Hickks,
César López Camarillo, Jessica Hernández-Ribera,
Alejandro Camacho Dávila, Edgar Estrella Parra,
María Elizabeth Álvarez Sánchez.

En la modalidad de cartel durante el
XXXIII Congreso Nacional de Bioquímica
16 - 21 de octubre de 2022, Mérida, Yucatán

Atentamente
Por el Comité Organizador

Dra. Teresa Hernández Sotomayor
Presidenta



CERTIFICADO DE FINALIZACIÓN

Basics of Bioinformatics research - from idea to article

Instructores **Souvik Chakraborty**

Marcos Morales Reyna

Fecha **7 de Septiembre de 2022**

Duración **3.5 horas en total**

CERTIFICADO DE FINALIZACIÓN

Certificate Course in Computer Aided Drug Design

Instructores **Ateos Foundation of Science Education and Research**

Marcos Morales Reyna

Fecha **22 de Agosto de 2022**

Duración **2.5 horas en total**

CERTIFICADO DE FINALIZACIÓN

Master Primer Designing & Polymerase Chain Reaction (PCR)

Instructores **Muhammad Ahsan Riaz**

Marcos Morales Reyna

Fecha **5 de Diciembre de 2022**

Duración **1.5 horas en total**



Article

Anticancer Activities of Prenylated Chalcones against Castration-Resistant Prostate Cancer Cell Lines PC3 and DU 145

Marcos Morales Reyna¹, María Elizabeth Álvarez Sánchez^{1*}, Espinoza Hickks José², César López Camarillo⁴, Hernández-Ribera Jessica³, Camacho Dávila Alejandro², Laura Isabel Vázquez-Carrillo⁴, Salgado Aguayo Alfonso⁴, Carlos Reyes Ángeles, Edgar Estrella Parra³, Álvarez-Jiménez VD³,

¹ Posgrado en Ciencias Genómicas Universidad Autónoma de la Ciudad de México

² Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Chihuahua

³ UBIPRO, FES-Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México

⁴ Laboratorio de Investigación en Enfermedades Reumáticas, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

³ Laboratorio de Onco-inmunobiología, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

⁶ Laboratorio de Biología Molecular y Bioseguridad Nivel 3, Centro Médico Naval-SEMAR

* maria.alvarez@uacm.edu.mx

Abstract: A group of prenylated chalcones was used to evaluate anticancer activity against castration-resistant prostate cancer cell lines PC3 and DU145. Among the series of tested chalcones, PVONA / 3F and PVINA / 2Cl showed the best anticancer activity with an IC50 of 88.73 and 61.71 μM respectively against the DU 145-cell line, for the case of the PC3 cell line, the IC50 for both chalcones was determined in 54.969 and 57.22 μM respectively. These chalcones were selected to carry out the following experiments. In the same way, changes in the membrane potential and the morphology of the cell lines caused by the interaction with the chalcones were detected, finally, molecular docking was carried out where the probability of binding to therapeutic targets involved in resistance was determined. to drugs, showing that these chalcones can bind to them at their active sites. being able to act as a blocker for them. **Keywords:** kevword 1: kevword 2: kevword 3 (List

LAS CHALCONAS

y su aplicación en el tratamiento del cáncer.

Biol. Marcos Morales Reyna¹, Dr. César López Camarillo¹, Dr. José Carlos Espinoza Hicks², Dra. Verónica Fernández Sánchez³, Dra. Violeta D Alvarez-Jimenez⁴, Dra. María Elizabeth Alvarez Sánchez^{1*}

¹ Posgrado en Ciencias Genómicas. Universidad Autónoma de la Ciudad de México.

² Facultad de Química. Universidad Autónoma de Chihuahua

³ Jefatura de la División de Investigación. Hospital Juárez de México

⁴ Laboratorio Biología Molecular y Bioseguridad Nivel 3. Centro Médico Naval, Secretaria de Marina-Armada de México.

*Autor correspondiente: maria.alvarez@uacm.edu.mx

Introducción

Las chalconas son metabolitos secundarios pertenecientes a la familia de los flavonoides y se encuentran de forma abundante en una gran diversidad de especies vegetales comestibles como es el caso de algunas frutas (Rudrapal et al., 2021; Zhuang et al., 2017). Estas chalconas presentan una estructura química característica 1,3-diaril-2-propen-1-ona (Fig.1), la cual es conocida como chalconoide, estructuralmente se han definido como anillo A al anillo de fenilo unido al grupo carbonilo y hacen referencia al anillo de benceno como anillo B (Zhuang et al., 2017)

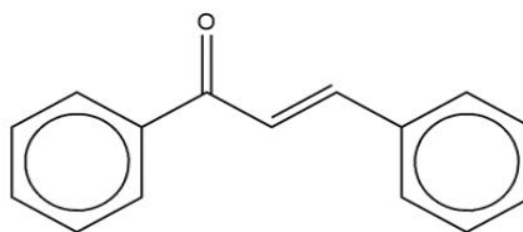


Fig 1. Estructura de una chalcona.