

UNIVERSIDAD DE CHILE

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas



“Síntesis y caracterización del efecto anti-proliferativo *in vitro* frente a cáncer de mama triple negativo de sales de fosfonio derivadas de 5,8-dihidroxi-4,4-dimetilnaftalen-1(4H)-ona.”

Tesis presentada a la Universidad de Chile para optar al grado de Magíster en Química área de especialización Tópicos de Química Medicinal y Memoria para optar al Título de Químico Farmacéutico.

por:

Felipe Andrés Muñoz Córdova

Directores de Tesis:

Dr. Ramiro Araya Maturana

Dr. Julio César Cárdenas Matus

Santiago-Chile

Abril de 2017

Tabla de contenido.

Financiamiento.....	iii
Tabla de Figuras.....	vi
Abreviaciones.....	vii
Resumen.....	viii
Summary.....	ix
Resumen gráfico.....	x
1. Introducción.....	1
1.1 Epidemiología del cáncer en Chile.....	1
1.2 La mitocondria como blanco farmacológico en el cáncer.....	1
1.3 Compuestos que incorporan sales de trifenilfosfónio: una opción selectiva para desarrollo de fármacos antitumorales.....	2
1.4 El Cáncer de mama triple-negativo.....	5
1.5 La Idea.....	6
2. Hipótesis.....	7
3. Objetivo General.....	7
4. Objetivos específicos.....	7
5. Métodos.....	8
5.1 Análisis de espectros y caracterización de los productos de síntesis.....	8
5.2 Métodos parte biológica.....	8
5.2.1 Cultivos celulares.....	8
5.2.2 Ensayo de MTT.....	8
5.2.3 Determinación de la muerte celular.....	9
5.2.4 Mediciones del metabolismo celular en tiempo real.....	9
5.2.5 Determinación de los niveles intracelulares de ATP.....	10
5.2.6 Medición de $\Delta\Psi_m$	11
5.2.7 Medición de proporción TMRM/NAO.....	11
5.2.8 Análisis de la progresión del ciclo celular.....	11
5.3 Expresión de resultados y análisis estadístico.....	12
6. Resultados.....	13
6.1 Resultados Parte I: Síntesis y caracterización química de los nuevos productos.....	13
6.1.1 Optimización de la síntesis de bromoacilhidroquinonas utilizando microondas.....	14

6.1.2	Obtención de las hidroquinonas bicíclicas, a partir de las bromoacilhidroquinonas.....	15
6.1.3	Obtención de sales de fosfonio de las hidroquinonas bicíclicas usando microondas.	17
6.1.4	Procedimientos experimentales químicos.....	18
6.2	Resultados parte II: Evaluación biológica de los productos sintetizados.....	30
6.2.1	Tamizado de los compuestos sintetizados según su efecto sobre la proliferación celular.....	30
6.2.2	Caracterización del efecto anti proliferativo del compuesto D ₄	32
6.2.3	Caracterización del efecto de D ₄ sobre la bioenergética celular.	39
7	Discusión.....	47
8	Conclusiones.....	52
10	Bibliografía.....	54

Tabla de Figuras

Figura 1.	Resumen gráfico del efecto biológico del compuesto D ₄	x
Figura 2.	Parámetros medidos de la respiración mitocondrial.....	10
Figura 3.	Valores de IS para cada molécula estudiada.	31
Figura 4.	El efecto del compuesto D ₄ sobre la proliferación de células tumorales MDA-MB-231 y MDA-MB-468 es una propiedad emergente de la molécula.	32
Figura 5.	El compuesto D ₄ afecta selectivamente la distribución del ciclo celular de células tumorales MDA-MB-321 y MDA-MB-468, aumentando el peak sub-G1 y produciendo detención del ciclo celular en la fase G1	33
Figura 6.	El compuesto D ₄ induce apoptosis en células de cáncer de mama MDA-MB-468, y MDA-MB-231; sin efectos significativos sobre células normales de mama MCF10A.....	35
Figura 7.	A) Datos representativos del experimento de doble marcaje AnxinV-fitC® versus PI abcam para 48hrs de estímulo con compuesto D ₄ en células normales y tumorales.....	36
Figura 8.	Las células de cáncer de mama MDA-MB-231 y MDA-MB-468 tienen una razón TMRM/NAO más alta que las células normales MCF10A	38
Figura 9.	El compuesto D ₄ afecta la respiración asociada a la síntesis de ATP de células normales MCF10A, sin afectar los niveles de ATP intracelular ni el potencial de membrana mitocondrial	40
Figura 10.	El compuesto D ₄ aumenta el consumo de oxígeno no asociado a la síntesis de ATP y disminuye fuertemente el consumo de oxígeno asociado a la síntesis de ATP, afectando también los niveles intracelulares de ATP y el potencial de membrana mitocondrial en células MDA-MB-231.....	41
Figura 11.	El compuesto D ₄ aumenta el consumo de oxígeno no asociado a la síntesis de ATP y disminuye fuertemente el consumo de oxígeno asociado a la síntesis de ATP, afectando también los niveles intracelulares de ATP y el potencial de membrana mitocondrial en células MDA-MB-468.....	42
Figura 12.	El compuesto D ₄ aumenta la tasa de acidificación (ECAR) del medio extracelular en células MCF10A, MDA-MB-231 y MDA-MB-468, a tiempo de 6 horas ..	44
Figura 13.	La reprogramación metabólica hacia la OXPHOS acentúa el efecto del compuesto D ₄ sobre la respiración celular y acentúa también el efecto sobre la proliferación de células MDA-MB-231.....	46