

# Evaluación farmacológica preclínica de nuevos productos bioactivos con aplicaciones como anti-tumorales



EDULPGC  
‘Mi proyecto de Tesis en un póster’

Directores: Leandro Fernández Pérez, Juan Carlos Díaz Chico, Carlos Borja Guerra Hernández

Grupo de Investigación: BIOPHARM-ULPGC

Instituto de Investigaciones Biomédicas y Sanitarias (IUIBS)

Programa de Doctorado en Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria

Patricia Martín Rodríguez

## INTRODUCCIÓN

El control farmacológico del cáncer sigue siendo uno de los mayores desafíos terapéuticos de la Oncología moderna. Las proteínas «Signal Transducers and Activators of Transcription (STAT) 3 y 5» controlan múltiples genes que son esenciales para el desarrollo y la supervivencia de cánceres hematológicos (ej., leucemia mieloide) y no-hematológicos (ej., mama, próstata). Por esta razón, las proteínas STAT3/5 constituyen importantes dianas terapéuticas contra las que se están desarrollando nuevos fármacos antitumorales. El trabajo de mi Tesis Doctoral se está desarrollando dentro del Programa de descubrimiento de nuevos antitumorales, inhibidores de las proteínas STAT3/5, que constituye un eje central del Proyecto coordinado (MINECO) entre los grupos de investigación BIOPHARM (IUIBS-ULPGC) y QUIBIONAT (IUBO-ULL).

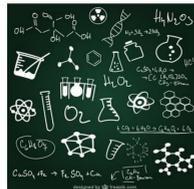
## Objetivo concreto

Identificar nuevos antitumorales eficaces para tratar tumores dependientes de los oncogenes Bcr-Abl y Stat5

## METODOLOGÍA

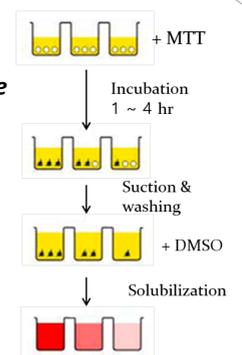
### 1. Síntesis del fármaco

Investigadores del IUBO (Dra. A. Estévez) diseñan pequeñas moléculas potencialmente bioactivas basándose en estructuras privilegiadas, con similitud estructural y/o funcional con moléculas de actividades conocidas

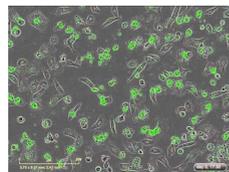


### 2. Ensayos de viabilidad celular. ¿Es nuestro fármaco capaz de inhibir la viabilidad/proliferación celular?

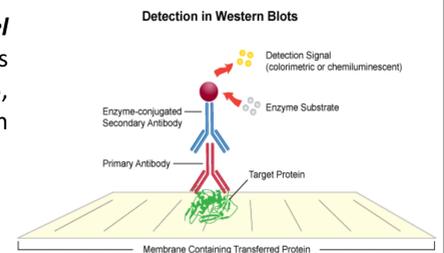
Ensayo colorimétrico basado en la reducción del MTT, indicador de la actividad metabólica mitocondrial, a tiempo final (48 horas)



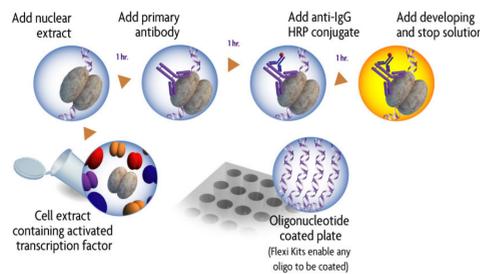
3. Sistemas de visualización y cuantificación de actividades biológicas a tiempo real: Sistema IncuCyte HD (Essen). ¿Las mata (citotóxico) o para su proliferación (citostático)? ¿Qué aspecto presentan las células durante el tratamiento? Permite el registro a tiempo real de imágenes celulares y la cuantificación de los efectos de nuestra molécula sobre proliferación y citotoxicidad



4. Inmunoprecipitación, Western Blot. ¿Cambia el patrón de fosforilación en proteínas de interés? Los cambios en la fosforilación de Bcr-Abl o Stat5, indicativos de sus actividades, se identifican con anticuerpos específicos comercializados



5. Ensayos para evaluar la modulación por parte del fármaco de la interacción Stat-ADN. ¿Interfiere en la unión entre el factor de transcripción Stat y su secuencia diana en el ADN? TransAM STAT kit (Active Motif, CA, USA). Se estudia si el fármaco es capaz de impedir la unión del factor de transcripción Stat a su secuencia consenso en el ADN

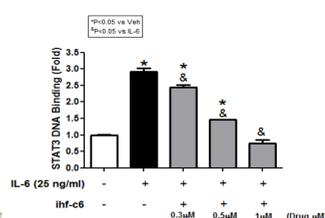
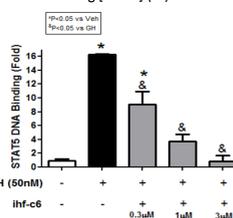
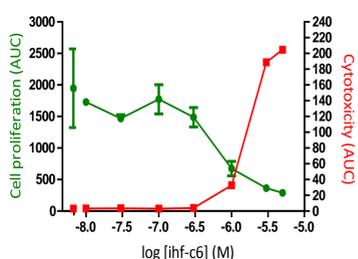
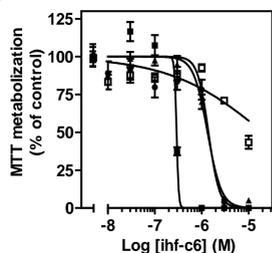


Flow chart of the TransAM<sup>®</sup> process. Activated transcription factor in the cell extract binds to the consensus-binding site on the oligo immobilized in the well. Incubation with the supplied primary and secondary antibodies specifically quantifies the amount of activated transcription factor.

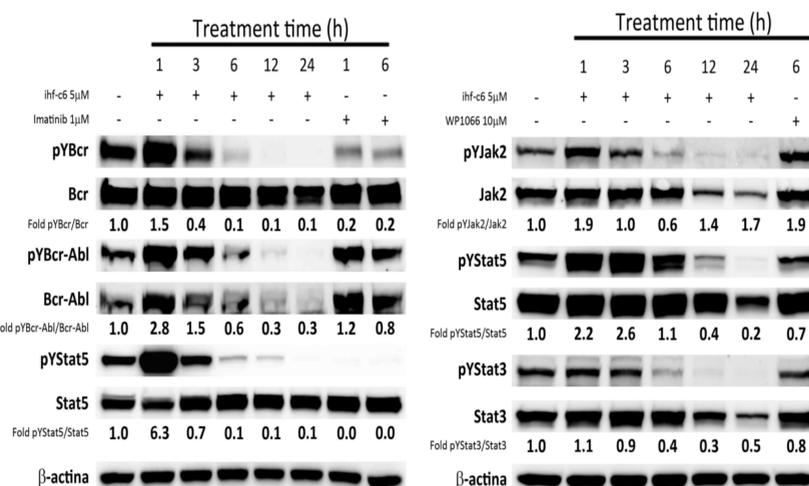


¿Qué falta por saber?

- ¿inhibe la actividad transcripcional de Stat3/5?
- ¿inhibe la expresión de genes diana dependientes de Stat3/5?
- ¿cómo mata a la célula tumoral?
- ¿cómo se modifica el ciclo celular?
- ¿cuál es su eficacia antitumoral in vivo?



## RESULTADOS



Inhibición de la fosforilación de Bcr y STAT5 en dos modelos de leucemias humanas: K562 (Leucemia Mieloide Crónica) y HEL (Eritroleucemia)

A los 30min de tratamiento con el fármaco se observa una disminución en la unión de Stat a su secuencia en el ADN; esta inhibición depende de la dosis: a más dosis menos capacidad de unión

## CONCLUSIONES

-ihf-c6 reduce la viabilidad y proliferación en células de leucemia humana

-ihf-c6 inhibe la activación de las proteínas Bcr-Abl/Jak2/Stat5/Stat3, fundamentales para la supervivencia de las líneas de leucemia estudiadas

-Ihf-c6 inhibe la unión de Stat5 y Stat3 al ADN