



EL USO DEL PEZ CEBRA PARA LA PROSPECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MOLÉCULAS CON POTENCIAL TERAPÉUTICO A PARTIR DE FUENTES NATURALES.

Enrique Salas-Vidal^{a**}, Andrés M. Rojas-Sepúlveda^d, Mario A. Mendieta-Serrano^a, Mayra Yaneth Antúnez-Mojica^b, Leticia Gonzáles-Maya^c, Silvia Marquina^b, y Laura Alvarez^b. ^a Departamento de Fisiología Molecular y Genética del Desarrollo, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. ^b Centro de Investigaciones Químicas y ^c Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Avenida Universidad #2001, Colonia Chamilpa. Cuernavaca, Morelos. C.P. 62210. México. ^d Facultad de Ciencias, Universidad Antonio Nariño, Bogotá, Colombia. esalas@ibt.unam.mx

Palabras clave: pez cebrá, prospección de moléculas, cáncer.

Introducción. México y Colombia son países que cuentan con regiones naturales de mega diversidad biológica, la cual se aprovecha en su extensa medicina tradicional. Por lo anterior presentan un gran potencial para la identificación de moléculas novedosas con posibilidades para su uso terapéutico. Recientemente reportamos que a partir de la planta medicinal mexicana *B. fagaroides var fagaroides* y por medio de ensayos bio-dirigidos se aislaron e identificaron 7 diferentes lignanos: podofilotoxina (**a**), β -peltatin-A-metileter (**b**), 5'-desmetoxi- β -peltatin-A-metileter (**3**), desmetoxi-yateina (**c**), desoxipodofilotoxina (**d**), burseranina (**e**) y acetil podofilotoxina (**f**), que presentaron una importante actividad citotóxica en líneas celulares de cáncer nasofaríngeo (KB), de colon (HF-6), de mama (MCF-7) y de próstata PC-3 (1). Sin embargo los mecanismos por medio de los cuales son citotóxicos aún son desconocidos. En años recientes el pez cebrá se ha establecido como un modelo para la prospección y caracterización de moléculas con potencial terapéutico (2). Por lo anterior el objetivo del presente trabajo fue el establecer los procedimientos para acelerar la prospección y caracterización de la actividad biológica de moléculas novedosas obtenidas a partir de fuentes naturales, utilizando como modelo de estudio a embriones de pez cebrá y líneas celulares tumorales.

Metodología. Se realizó una extracción hidroalcohólica (HA) de muestras de la corteza de *B. fagaroides var fagaroides*, seguida de un fraccionamiento por cromatografía de columna abierta y por HPLC de fase reversa (1). La actividad biológica del extracto HA, de las fracciones y de los compuestos puros (**a-f**) fue caracterizada en embriones de pez cebrá por métodos de inmunolocalización utilizando diferentes marcadores, seguido por la visualización por microscopia de luz (3) y confocal y su posterior procesamiento y análisis de imágenes (4). Paralelamente se analizaron los efectos de los lignanos en línea tumoral PC-3 sobre los microtúbulos.

Resultados. Por medio de la inmuno localización del marcador de mitosis, la histona H3 fosforilada en la serina 10, se encontró que al incubar embriones de pez cebrá de 24 horas post fertilización (hpf) por 6 horas en

presencia de cuatro de los siete lignanos (**a, b, d y f**), se induce arresto mitótico y se provocan defectos morfológicos similares a los provocados al incubar a los embriones en nocodazol, la cual es una molécula que desestabiliza al citoesqueleto de microtúbulos. Los microtúbulos son esenciales para el proceso de migración celular durante el desarrollo temprano del pez cebrá y previamente se ha utilizado su inhibición como un bioensayo para verificar efectos en los microtúbulos en prospecciones de moléculas. Encontramos que los mismos lignanos que indujeron arresto mitótico también perturbaron al proceso de migración celular durante la gastrulación y afectaron notablemente al citoesqueleto de microtúbulos en embriones tempranos de pez cebrá. Finalmente al analizar el efecto de al menos tres de los lignanos descritos (**a, b y c**) en la línea de cáncer de próstata PC-3, encontramos que provocaron efectos equivalentes de desestabilización en los microtúbulos.

Conclusiones. Podemos concluir que el pez cebrá es un excelente modelo para analizar los efectos biológicos de los principios activos obtenidos a partir de plantas medicinales, y muestran una alta correlación con los efectos observados en líneas celulares tumorales, por lo que representa un gran potencial para extender su uso en la caracterización de compuestos obtenidos a partir de otras fuentes naturales.

Agradecimiento. DGAPA IN205612 y CONACYT No. 82851 y LN 232693.

Bibliografía.

1. Rojas-Sepúlveda, A.M., Mendieta-Serrano, M., Mojica, M.Y., Salas-Vidal, E., Marquina, S., Villarreal, M.L., Puebla, A.M., Delgado, J.I., Alvarez, L., 2012. Cytotoxic Podophyllotoxin Type-Lignans from the Steam Bark of *Bursera fagaroides var. fagaroides*. *Molecules* 17, 9506-9519.
2. Crawford, A.D., Liekens, S., Kamuhabwa, A.R., Maes, J., Munck, S., Busson, R., Rozenski, J., Esguerra, C.V., de Witte, P.A., 2011. Zebrafish bioassay-guided natural product discovery: isolation of angiogenesis inhibitors from East African medicinal plants. *PLoS one* 6, e14694.
3. Murphey, R.D., Stern, H.M., Straub, C.T., Zon, L.I., 2006. A chemical genetic screen for cell cycle inhibitors in zebrafish embryos. *Chemical biology & drug design* 68, 213-219.
4. Mendieta-Serrano, M.A., Schnabel, D., Lomeli, H., Salas-Vidal, E., 2013. Cell proliferation patterns in early zebrafish development. *Anat Rec (Hoboken)* 296, 759-773.