



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO



DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BÁSICAS

**IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN DE
BIOMOLÉCULAS DE LA SEMILLA DE *Manilkara zapota* FRENTE A
P53 Y P21**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LINCENCIADO EN QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

VIVIANA GUADALUPE PÉREZ RODRÍGUEZ

DIRECTORA:

DRA. ADELMA ESCOBAR RAMIREZ

CODIRECTOR:

DR. OSWALDO IGNACIO HERNANDEZ ABREU

COLABORADOR:

DR. ALFREDO TELLEZ VALENCIA

CUNDUACÁN, TABASCO, SEPTIEMBRE DEL 2024

DIRECCIÓN

Cunduacán, Tabasco; a 12 de julio de 2024.

**C. VIVIANA GUADALUPE PÉREZ RODRÍGUEZ
PASANTE DE LA LIC. EN QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T E**

Por medio del presente, me dirijo a usted para hacer de su conocimiento que proceda a la impresión del trabajo titulado "IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN DE BIOMOLÉCULAS DE LA SEMILLA DE *Manilkara zapota* FRENTE A P53 Y P21", dirigido por la Dra. Adelma Escobar Ramírez y Dr. Oswaldo Ignacio Hernández Abreu con la colaboración del Dr. Alfredo Téllez Valencia, bajo la modalidad de titulación por TESIS. La comisión de revisión conformada por el Dr. Cuauhtémoc Alvarado Sánchez, Dr. Oswaldo Ignacio Hernández Abreu, Dr. Miguel Ángel Vilchis Reyes y la Mtra. Cecilia Sánchez Trinidad, liberó el documento en virtud de que reúne los requisitos para el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente.

Sin otro particular, reciba usted un cordial saludo.

ATENTAMENTE



**DRA. HERMICENDA PÉREZ VIDAL
DIRECTORA**



C.c.p. Pasante.
C.c.p. Archivo.

Declaración de Autoría y Originalidad

En la Ciudad de Villahermosa Tabasco, el día 21 del mes agosto del año 2024, el que suscribe Viviana Guadalupe Pérez Rodríguez egresada del Programa de Lic. En Químico Farmacéutico Biólogo con número de matrícula 142A20075, adscrito a la Lic. En Químico Farmacéutico Biólogo, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autora de la Tesis presentada para la obtención del título de Lic. En químico farmacéutico biólogo y titulada **IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN DE BIOMOLÉCULAS DE LA SEMILLA DE *Manilkara zapota* FRENTE A P53 Y P21** dirigida por la Dra. Adelma Escobar Ramírez y el Dr. Oswaldo Ignacio Hernández Abreu, y con la colaboración del Dr. Alfredo Tellez Valencia.

DECLARO QUE:

La Tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (Decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de Julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido de la Tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente

Villahermosa, Tabasco a 14 de agosto de 2024.

Viviana G.P.R.

Viviana Guadalupe Pérez Rodríguez

Nombre y Firma

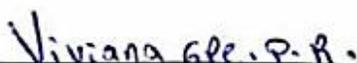
Carta de Cesión de Derechos

Villahermosa, Tabasco a 21 de agosto de 2024.

Por medio de la presente manifestamos haber colaborado como AUTORES en la producción, creación y/o realización de la obra denominada **IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN DE BIOMOLÉCULAS DE LA SEMILLA DE *Manilkara zapota* FRENTE A P53 Y P21**. Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un período de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

COLABORADORES

EGRESADA


Viviana Guadalupe Pérez Rodríguez

DIRECTORA


Dra. Adelma Escobar Ramírez

CODIRECTOR

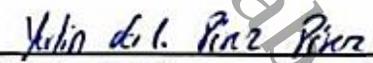

Dr. Oswaldo Ignacio Hernández Abreu

COLABORADOR


Dr. Alfredo Téllez Valencia

TESTIGOS


Ing. Cristhian De Jesús De La Cruz Garrillo


Lic. Yerlin del Carmen Pérez Pérez

LICENCIATURA - IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN DE BIOMOLÉCULAS DE LA SEMILLA DE Manilkara zapota FRENTE A P53 Y P21

INFORME DE ORIGINALIDAD

18%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	docplayer.es Internet	468 palabras – 3%
2	gacetajuchiman.ujat.mx Internet	283 palabras – 2%
3	www.scielo.org.mx Internet	193 palabras – 1%
4	www.thefreelibrary.com Internet	169 palabras – 1%
5	www.scielo.org.bo Internet	162 palabras – 1%
6	www.elsevier.es Internet	148 palabras – 1%
7	www.yumpu.com Internet	142 palabras – 1%
8	www.researchgate.net Internet	133 palabras – 1%
9	hdl.handle.net Internet	131 palabras – 1%



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS BÁSICAS

ESTUDIOS
TERMINALES

DEDICATORIAS

A Dios

Por haberme permitido llegar hasta al final de esta meta a pesar de todas las adversidades, por ser mi intercesor y guía a lo largo de este camino. Gracias padre eterno por darme la salud y sabiduría que necesitaba para cumplir con mis objetivos, porque sin tu ayuda nada sería posible, gracias por darme el aliento para salir adelante en esos momentos cuando más te necesitaba y sobre todo señor adoro tu bondad que es infinita por ese amor inmenso que sientes hacia tu prójimo, porque tú eres perfecto y siempre haces que se haga tu voluntad y no la nuestra. Gracias porque en el transcurso de este largo caminar comprendí que los tiempos de dios son perfectos y que sin tu ayuda nada de todo esto sería posible. Gracias padre amado por ser tan misericordioso con tus hijos.

A mi madre Ana Graciela

Por darme la vida y apoyarme siempre en todas mis locuras, por ser padre y madre para mí y nunca dejarme sola. Gracias a quien me ha heredado el tesoro más valioso que pudiera dársele a una hija que es Amor, gracias a quien con su cansancio y sufrimiento logro salir adelante sin importar el qué dirán, gracias a esa persona que se esforzó y sacrifico todo por darme lo mejor día con día, para ser mejor persona y convertirme en alguien de provecho, gracias por su paciencia y enseñarme que no todo es fácil y que todo en esta vida cuesta y mucho solo hay que esforzarse un poco más. Agradezco sus consejos, atenciones, regaños, esfuerzos y cariños que me hicieron una persona más fuerte e independiente, nunca podré pagar todos sus desvelos ni aun con la riqueza más grande del mundo, ni me alcanzará la vida para agradecerle infinitamente todo lo que hizo y hace todos los días por mí. Gracias madre por ser mi guía y ejemplo a seguir te amo con todo mi corazón, todo esto es por ti.

A mi esposo Cristhian

Por ayudarme en los momentos de desesperación por consolarme cuando más lo necesitaba, por aconsejarme en lo que podía mejorar, por compartirme sus experiencias y tomarlas como consejos, por tenerme paciencia en mis momentos de estrés por comprenderme cuando ya no podía más y apoyarme económicamente cuando tenía que ir a la universidad. Gracias a esa persona que se esfuerza para sacarnos adelante todos los días para que no nos falta nada ni a mí ni a su hija. Gracias Amor por ser mi compañero de vida y aventuras sin ti tampoco esto fuera posible porque tú me enseñaste a nunca darme por vencida, te amo infinitamente y este logro también va por ti.

A mi hija Fátima

Por enseñarme que nadie nace sabiendo ser madre que no existe un instructivo que te diga que hacer, gracias por ser mi fuerza y por alegrar mi vida en mis momentos más tristes, gracias por ser esa hija comprensible que con su inocencia y sencillez me demuestras que siempre hay que sonreírle a la vida a pesar de las adversidades. Te amo mucho, hija mía, y todo este proyecto es dedicado a ti.

A mis abuelos Ciro y Rosa María

Por acogerme como una hija más para ellos, por darme el aliento para salir a delante, por enseñarme valores, por ser mis segundos padres cuando mi madre salía a trabajar, por ser mis guías en mi crecimiento, por corregirme cuando algo estaba mal y por ser siempre mis ejemplos a seguir, gracias porque con ustedes aprendí, que para obtener algo que anhelamos hay que esforzarnos un poco más de lo planeado y que si no los proponemos podemos llegar a hacer lo que queremos sin importar el qué dirán, gracias por apoyarme cuando más lo necesitaba y por comprenderme cuando cometía errores. Los amo mucho mamá y papá espero en mi dios me los conserve por mucho tiempo más de vida sin ustedes esto tampoco fuese posible.

AGRADECIMIENTOS

A la UJAT

Por brindarme su apoyo al hacer uso de sus instalaciones y formarme como una persona fuerte, independiente, capaz e inteligente tanto laboralmente como profesionalmente.

Al laboratorio de bioquímica y biología molecular

Por brindarme los instrumentos necesarios en cuanto a préstamo de, materiales y equipos, para llevar a cabo esta tesis y hacer uso de sus instalaciones.

A mi directora de tesis

A la Dra. Adelma Escobar Ramírez que es una persona respetable y admirable en la cual confío, gracias por su tiempo y dedicación en este proyecto porque sin sus conocimientos y aprendizajes no hubiera sido posible lograr esta meta, de igual forma agradezco su paciencia y compromiso para culminar con este proyecto. Dios la bendiga enormemente a usted y a su familia y que todos sus propósitos se cumplan.

A mi codirector

El Dr. Oswaldo Ignacio Hernández Abreu que es una persona respetable y admirable el cual me apoyo a lo largo y desarrollo de este trabajo, gracias por su valioso tiempo y disponibilidad porque sin sus conocimientos no hubiera sido posible lograr este proyecto. Gracias por todas las aportaciones logradas. Dios lo bendiga y le conceda siempre sabiduría.

A mi colaborador

El Dr. Alfredo Téllez Valencia persona a la cual admiro y respeto y que a pesar de la distancia siempre estuvo muy pendiente de este proyecto, gracias por el tiempo brindado y por los conocimientos impartidos durante todo este recorrido. Gracias por su paciencia y por siempre resolver todas mis dudas. Dios los bendiga a usted y a su apreciable familia y que vengan muchos más éxitos en su vida.

A la comisión revisora

A el Dr. Cuauhtémoc Alvarado Sánchez, al Dr. Oswaldo Ignacio Hernández Abreu, a el Dr. Miguel Ángel Vilchis Reyes y la Mtra. Cecilia Sánchez Trinidad, por ser las personas que lograron fuera posible la aprobación de este proyecto, por el tiempo dedicado a la revisión del mismo, por sus sugerencias y conocimientos aportados. Gracias por hacer que esto que comenzó como un sueño se haga realidad. Dios los bendiga hoy y siempre.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

ÍNDICE

I) RESUMEN.....	1
PALABRAS CLAVES.	
II) ABSTRACT.....	2
III) INTRODUCCIÓN.....	3
IV) MARCO TEORICO.....	5
4.1 Antecedentes del cáncer.	
4.1.2 Como se produce.	
4.2 Tipos de cáncer.	
4.2.2 Cáncer de colon.....	7
4.3 Antecedentes de <i>Manilkara zapota</i>	8
4.3.1 Uso de <i>Manilkara zapota</i> en la medicina tradicional (fruto, semillas, corteza, tallo).....	9
4.3.2 Estudios fitoquímicos de <i>Manilkara zapota</i>	10
4.3.3 Antecedentes farmacológicos de <i>Manilkara zapota</i>	
4.4 Farmacognosia en la actualidad.....	12
4.5 Cromatografía de líquidos acoplada a masas (LC-MS).	
4.5.1 Componentes del espectrómetro de masas.....	13
4.5.2 Inyección de la muestra en LC-MS.....	14
4.6 Factores de transcripción.....	15
4.6.1 P53.....	17
4.6.1.1 Estructura de la proteína p53.....	18
4.6.2 P21.....	20
4.6.2.1 Actividad de P21 en el núcleo y citoplasma.....	21
4.7 Estudios <i>in silico</i>	24
V. JUSTIFICACIÓN.....	26
VI. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	26
VII. HIPÓTESIS O SUPUESTO.....	27
VIII. OBJETIVO GENERAL.....	27
IX. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	27
X. MATERIALES Y METODOS.....	29
10.1 Colecta del fruto.....	30
10.2 Procesamiento de la semilla.	
10.3 Obtención de los extractos.	
10.4 Determinación del perfil metabólico mediante LC-MS de <i>Manilkara zapota</i>	32
10.5 Obtención de los datos cristalográficos del protein-data bank para p53 y p21.	
10.6 Obtención de las moléculas identificadas en el LC-MS.....	33

10.7 <i>Docking</i> molecular.....	33
10.8 Obtención de la información del genoma humano para 1TUP (p53) y 4NJD (p21).	
XI. RESULTADOS.....	34
11.1 Moléculas de interés presentes en la semilla de <i>Manilkara zapota</i> .	
11.2 Moléculas identificadas en el LC-MS.	
11.3 Datos cristalográficos del protein-data bank para p53 (1TUP).....	42
11.4 Datos cristalográficos del protein-data bank para p21 (4NJD).	
11.5 Secuencia del genoma humano para 1TUP (p53) y 4NJD (p21).....	43
11.6 Determinación de los sitios de unión de la proteína P53 y P21	46
11.6.1 Factor de transcripción P53 (tabla 2).....	47
11.6.2 Factor de transcripción P21 (tabla 3).	
11.7 Análisis de los modelos que interactúan con la proteína.....	61
11.7.1 Modelos de las interacciones de las moléculas obtenidas de <i>Manilkara zapota</i> con la proteína P53 en el sitio de unión al ADN.	
11.7.2 Otros sitios de unión de la proteína P53	66
* P21.	
11.7.3 Modelos e interacciones de la proteína P21.	
11.7.4 Sitios de unión de la proteína P21	73
XII. DISCUSIÓN.....	74
XIII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	77
XIV. REFERENCIAS CITADAS	79
XV. ANEXOS.....	88

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ilustración de la próstata normal y con cáncer.....	6
Figura 2. Ilustración de cáncer colorrectal.....	7
Figura 3. Caracterización del fruto de estudio (<i>Manilkara zapota</i>).....	9
Figura 4. Frutos de <i>Manilkara zapota</i>	10
Figura 5. Esquema de un cromatógrafo de líquidos.....	14
Figura 6. Las cuatro interfases proteína-ADN.....	19
Figura 7. Actividades de p21 en el núcleo y el citoplasma.....	23
Figura 8. Esquema de la metodología general.	29
Figura 9. Extracto de la semilla de <i>Manilkara zapota</i>	31
Figura 10. Liofilización del extracto hidroalcohólico de <i>Manilkara zapota</i> .	
Figura 11. Cromatograma general del extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Manilkara zapota</i>	34

Figura 12. Cromatograma del ácido pentanoico, 4-amino.....	35
Figura 13. Cromatograma del ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico.	
Figura 14. Cromatograma del ácido dodecanodioico.	36
Figura 15. Cromatograma de la molécula 3,4',5-trihidroxistilbeno (resveratrol).	
Figura 16. Cromatograma de la molécula curmadiona.	37
Figura 17. Cromatograma de la molécula 16:4(4Z,7Z,10Z,13Z) ácido hexadeca-tetraenoico.	
Figura 18. Cromatograma de la molécula 9Z,12Z,15Z-octadecatrienal.	38
Figura 19. Cromatograma de la molécula dihidrocodeína.	
Figura 20. Cromatograma de la molécula 9E,12E,15E-octadecatrien-1-ol.....	39
Figura 21. Estructuras químicas de las moléculas seleccionadas.....	40
Figura 22. Estructura de p53 (1TUP) en tercera dimensión.....	42
Figura 23. Estructura en tercera dimensión de p21(4NJD).....	43
Figura 24. Secuencia de p53 humana.....	44
Figura 25. Región o sitio común de la secuencia de p53 con los modelos de los metabolitos seleccionados.	
Figura 27. Secuencia de p21 humana.....	45
Figura 28. Región o sitio más común de la secuencia de p21 con los modelos de los metabolitos seleccionados.	46
Figura 29. Ejemplo de la secuencia humana de p21 para el ácido pentanoico, 4-amino.	
Figura 30. Modelo del ácido pentanoico, 4-amino.....	61
Figura 31. Mapa de interacciones de los modelos 5, 7 y 9, seleccionados de la molécula ácido pentanoico, 4-amino con p53.	62
Figura 32. Interacción de p53 con el ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico.	
Figura 33. Mapa de interacción de los residuos presentes en el sitio de unión al ADN de la proteína p53 con la molécula de ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico (modelo 2).....	63
Figura 34. Interacción de p53 con el ácido dodecanodioico.	
Figura 35. Mapa de interacción de p53 con los modelos 2 y 9.	64
Figura 36. Interacción de p53 con los modelos 3 y 8 del 3,4',5-trihidroxistilbeno.	
Figura 37. Mapa de interacción de los modelos 3 y 8 de la molécula 3,4',5-trihidroxistilbeno en el pocket (sitio de unión) del ADN de p53.	
Figura 38. Interacciones de la proteína p53 con la molécula de dihidrocodeína.....	65
Figura 39. Mapa de interacción del sitio de unión (pocket) al ADN con los modelos 4 y 8 de la molécula dihidrocodeína.	
Figura 40. Otros sitios de unión de la proteína P53.....	66
Figura 41. Interacción de p21 con el ácido pentanoico, 4-amino.	
Figura 42. Mapa de interacción de P21 con la molécula de ácido pentanoico, 4-amino en los modelos 3,5 y 7, y con los modelos 4, 9 y 10.....	67
Figura 43. Interacción de la proteína p21 con el con el ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico	68

Figura 44. Mapa de interacción de p21 con la molécula de ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico (modelo 2).	
Figura 45. Interacción de la proteína p21 en el sitio catalítico de unión con el ácido dodecanodioico.	69
Figura 46. Mapa de interacción de p21 con la molécula de ácido dodecanodioico en los modelos 2,4 y 7.	
Figura 47. Interacción en el sitio catalítico de p21 con el 3,4',5-trihidroxistilbena (resveratrol).....	70
Figura 48. Mapa de interacción de los residuos del sitio catalítico de p21 con la molécula 3,4',5-trihidroxistilbena en los modelos 3,4,5 y 7,8, 10.	71
Figura 49. Interacción del sitio catalítico de la proteína p21 con la molécula de dihidrocodeína.	
Figura 50. Mapa de interacción de los residuos de aminoácidos del sitio catalítico de P21 en la molécula dihidrocodeína.	
Figura 51. Interacción del sitio catalítico de la proteína p21 con la molécula 9E,12E,15E-octadecatrien-1-ol.	72
Figura 52. Mapa de interacción de los residuos de aminoácidos del sitio catalítico de p21 en molécula 9E,12E,15E-octadecatrien-1-ol.	
Figura 53. Otros sitios de unión de la proteína P21.	73

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Moléculas seleccionadas obtenidas en el LC-MS.....	41
Tabla 2. Residuos de la proteína p53 que interactúan con la molécula de interés seleccionada, en los diferentes modelos de interacción.	49
Tabla 3. Residuos que interactúan con la proteína P21 a través de diferentes moléculas.	51
Tabla 4. Modelos de interacción con los residuos específicos de P53	54
Tabla 5. Modelos que interactúan con P21.	57

I) RESUMEN

El cáncer es una enfermedad en la que algunas células del cuerpo crecen sin control y se propagan a otras partes del cuerpo. Los cánceres se agrupan según el órgano o tejido de origen, más también, según las características moleculares de las respectivas células cancerosas. En la actualidad existen diferentes tratamientos para combatir el cáncer, sin embargo, solo en algunos casos son efectivos, además provocan considerables efectos secundarios en la persona que lo recibe; es por ello que a la fecha no se cuenta con un tratamiento efectivo.

Existen alrededor de 10 millones de personas en el mundo que padecen cáncer y, de acuerdo a los avances tecnológicos de los últimos años, ahora es posible analizar a detalle la composición molecular de diferentes tipos de cáncer en cortos períodos de tiempo. Sabemos que nuestro país posee gran cantidad de plantas y frutas con efectos curativos (medicinales) y en la mayoría de los casos no todas han sido estudiadas; es por ello que en el presente trabajo se investigó a partir del extracto de la semilla de *Manilkara zapota* y de los metabolitos secundarios presentes, mediante la cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas, las moléculas obtenidas de este procedimiento fueron seleccionadas y sometidas a estudios moleculares como el acoplamiento molecular (*docking*) las cuales fueron enfrentadas, con los datos cristalográficos de los factores de transcripción p53 y p21 implicado en la división y destrucción de las células cancerosas. En un futuro, estos estudios de interacción podrían permitir el diseño de un fármaco que se adapte de forma óptima al tratamiento de un cáncer en particular.

PALABRAS CLAVES

Biomolécula, *Docking*, *Manilkara zapota*, P53, P21, Metabolitos, Moléculas, LC-MS.

II) ABSTRACT

Cancer is a disease in which some cells in the body grow uncontrollably and spread to other parts of the body. Cancers are grouped according to the organ or tissue of origin, but also according to the molecular characteristics of the respective cancer cells. Currently there are different treatments to combat cancer, however, only in some cases are they effective, and they also cause considerable side effects in the person who receives them; That is why to date there is no adequate treatment that is effective.

There are around 10 million people in the world who suffer from cancer and, according to technological advances in recent years, it is now possible to analyze in detail the molecular composition of different types of cancer in short periods of time. We know that our country has a large number of plants and fruits with healing (medicinal) effects and in most cases not all have been studied; That is why in the present work it was investigated from the Manilkara zapota seed extract and the secondary metabolites present, using high-resolution liquid chromatography coupled to mass spectrometry, the molecules obtained from this procedure were selected and subjected to molecular studies such as molecular docking (docking), which were confronted with crystallographic data of the transcription factors p53 and p21 involved in the division and destruction of cancer cells. In the future, these interaction studies could allow the design of a drug that is optimally adapted to the treatment of a particular cancer.

KEYWORDS:

Biomolecule, Docking, Manilkara zapota, P53, P21, Metabolites, Molecules, LC-MS.

III) INTRODUCCIÓN

El cáncer es una enfermedad que se caracteriza por una proliferación descontrolada de las células, las cuales invaden los tejidos y órganos del cuerpo humano (Roy *et al.*, 2016; Saiki *et al.*, 2016). El índice de mortalidad a nivel mundial es 10 millones de muertes por cáncer en el año 2020 (Sung *et al.*, 2021; Ferlay *et al.*, 2021; Siegel *et al.*, 2021; Laversanne *et al.*, 2021), mientras que en México se registraron 683 823 defunciones (estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer, Instituto nacional de estadística y geografía, 2022), para el caso del estado de Tabasco el índice se encuentra en 50.93 a 62.44. En el presente trabajo se abordará el cáncer debido a la alta mortalidad que nuestro país presenta. Los tipos de cáncer a estudiar son colorrectal y de próstata porque estadísticamente se encuentran con mayor incidencia (Organización Mundial de la Salud., 2022). De igual manera se estudiarán los factores de transcripción p53 y p21 porque son los genes con mutación más frecuente en personas con cáncer (National cancer institute., 2017).

La necesidad del hombre de conocer nuevas opciones terapéuticas ha permitido el desarrollo tecnológico de mejores técnicas analíticas en el avance y descubrimiento de plantas, que poseen propiedades benéficas para la salud. En este estudio se utilizó diferentes técnicas, entre ellas la cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (LC/MS), que nos permitió obtener e identificar las moléculas presentes en el extracto hidroalcohólico de la semilla de *Manilkara zapota*. (Allar *et al.*, 2018; Bisson *et al.*, 2018; Azzollini *et al.*, 2018).

En cada parte de nuestro país como Veracruz, Oaxaca y la península de Yucatán podemos encontrar diversidad de plantas medicinales, tal es el caso de la *Manilkara zapota* que por las propiedades medicinales que posee tanto en hojas, fruto, cascara, semilla, y flores, es la indicada para ser partícipe de este estudio (López *et al.*, 2008, García *et al.*, 2012, Ling *et al.*, 2019).

En el presente proyecto se utilizó extractos de la semilla de *Manilkara zapota* para determinar sus metabolitos secundarios presentes mediante la cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas; las moléculas obtenidas de la

espectrometría de masas, serán seleccionadas y posteriormente sometidas a interacción por acoplamiento molecular (*docking*), con la estructura cristalográfica de los factores de transcripción p53 y p21, lo que permitió evaluar si estos factores de transcripción son afectados por el efecto de la presencia de estos metabolitos en la actividad antiproliferativa. La identificación de una molécula con efecto antiproliferativo permitirá a futuro el diseño de un fármaco que pueda ser utilizado en la terapia contra el cáncer.

México.

IV) MARCO TEORICO

4.1 Antecedentes del cáncer

El cáncer es una enfermedad que se caracteriza por una proliferación descontrolada de las células, las cuales invaden los tejidos y órganos del cuerpo humano (Fayek *et al.*,2012; Monem *et al.*,2012; Mossa *et al.*,2012), puede iniciar en cualquier célula del cuerpo debido a daños que presentan los genes encargados de la división celular (Mackay *et al.*,2006; Jemal *et al.*,2006; Lee *et al.*,2006; Parkin *et al.*,2006). La forma de almacenar la información de las células es a través de las cadenas de ADN, sitio crítico de la génesis tumoral, así como blanco específico de los fármacos (Chacón *et al.*,2009).

4.1.2 Como se produce

El cáncer surge de cualquier órgano o estructura corporal y está compuestos por células diminutas que tienen un crecimiento descontrolado. Ocasionalmente, el cáncer puede detectarse "incidentalmente" mediante una prueba de laboratorio o una prueba radiológica de rutina o por una razón completamente diferente. En general, el cáncer debe alcanzar un tamaño de 1 cm o estar compuesto por 1 millón de células antes de ser detectado. En este punto, puede denominarse "masa", "crecimiento", "tumor", "nódulo", "bulto" o "lesión". Las excepciones a esta regla general incluyen los cánceres de la sangre y la médula ósea (leucemias y linfomas), que con frecuencia no producen una "masa", pero serán evidentes en las pruebas de laboratorio. (Sánchez *et al.*,2013).

4.2 Tipos de cáncer

Los tipos de cáncer más comunes son: Cáncer de próstata, pulmón, colorrectal, piel, gástrico y en mayor proporción cáncer de mama. (Organización Mundial de la Salud., 2022). Aunque existen diferentes tipos de cáncer, unos con mayor incidencia que otros, el colorrectal y el de próstata son los de interés para esta investigación, por lo que a continuación se estudiarán brevemente.

4.2.1 Cáncer de próstata

El cáncer de próstata es el cáncer más común y la segunda causa principal de muerte por cáncer para hombres en los Estados Unidos de América. En general, el cáncer de próstata crece de forma muy lenta (Fig. 1); (Cáncer de próstata versión para pacientes, Instituto Nacional del Cáncer., 2019). Numerosos estudios indican que el cáncer de próstata es impulsado por el receptor de andrógenos (AR, por sus siglas en inglés), un factor de transcripción dependiente de ligandos que pertenece a la familia de receptores nucleares. En ausencia de ligando (p. ej., los principales andrógenos dihidrotestosterona (DHT) y testosterona, u otros esteroides androgénicos), el AR se localiza en el citoplasma celular, formando complejos con proteínas chaperonas (Nevedomskaya *et al.*,2018; Baumgart *et al.*,2018; Haendler *et al.*,2018).

El cáncer de próstata todavía está confinado al órgano o solo está localmente avanzado en el momento del diagnóstico. Dependiendo de múltiples parámetros que incluyen el estadio clínico y los niveles de antígeno prostático específico (PSA), se toman decisiones sobre si optar por vigilancia activa, radioterapia local o prostatectomía. Una vez que la enfermedad se ha diseminado fuera de la próstata, a menudo se usa la terapia de privación de andrógenos (ADT) mediante castración quirúrgica o química para disminuir los niveles de testosterona circulante (Sumanasuriya *et al.*,2018; De Bono *et al.*,2018).

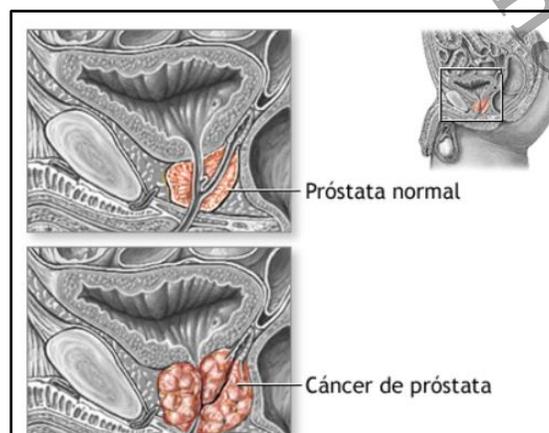


Figura 1. Ilustración de la próstata normal y con cáncer. Tomado de (National Cancer Institute, 2019).

4.2.2 Cáncer de colon

El cáncer de colon es un tumor del intestino grueso, y es la tercera causa de muerte relacionada con el cáncer en los Estados Unidos y en México (Gobierno de México., 2023). Sin embargo, la mayoría de las personas con cáncer de colon mejoran si el cáncer se detecta a tiempo.

El cáncer de recto es un tipo de cáncer de colon que comienza al final del intestino grueso, que se llama recto. El término cáncer colorrectal se usa para el cáncer de colon o recto (Fig.2) (American Family Physician., 2018).

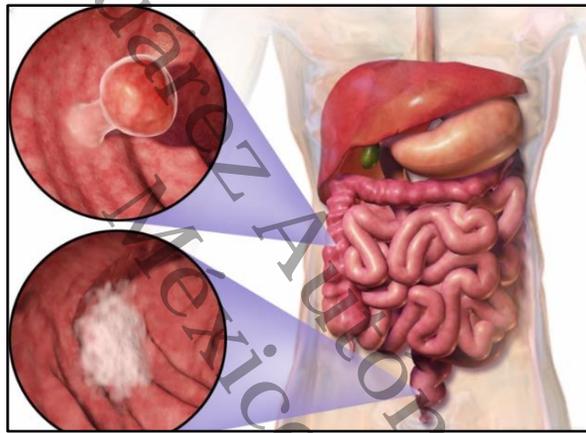


Figura 2. Ilustración de cáncer colorrectal. Tomada de (Arias et al.,2013; García et al.,2013; Uribe et al.,2013).

El cáncer colorrectal se presenta de manera esporádica en el 80 - 90 % de los casos analizados y por la secuencia de manifestaciones comienza con la presencia de pólipos adenomatosos que progresan a carcinoma. La detección temprana de estas lesiones permite realizar un tratamiento oportuno, mediante la resección (endoscópica y en ocasiones por cirugía) para evitar la progresión hacia cáncer. El otro 10 - 20 % del cáncer colorrectal aparece en pacientes con antecedentes familiares de enfermedades polipósicas y no polipósicas del colon y aquellos con enfermedad inflamatoria intestinal (Arias et al.,2013; García et al.,2013; Uribe et al.,2013).

El diagnóstico del cáncer de colon se hace en sujetos sospechosos por uno o más síntomas o signos clínicos que presenten, y puede ser diagnosticado mediante el tamizaje de rutina en los sujetos que tienen moderado a alto riesgo. Una vez que hay sospecha del cáncer colorrectal, se puede decidir entre hacer estudios que visualicen la lesión directamente, o estudios de laboratorio que son más conservadores. (Granados *et al.*,2014).

4.3 Antecedentes de *Manilkara zapota*

El chicozapote (*Manilkara zapota*) es una planta originaria de México, que se encuentra distribuido en Tamaulipas, Nayarit, Colima y Michoacán, así como en Campeche, Chiapas, Tabasco, Quintana Roo y Yucatán. Su nombre común proviene del náhuatl "*chictli*", debido a que posee un aroma y un sabor dulce por naturaleza (Hernández *et al.*,2019; Quinto *et al.*,2019; Aguilar *et al.*,2019).

El árbol de chicozapote puede alcanzar una altura de 25 a 30 metros y en ocasiones hasta 45 metros; es un árbol sencillo de crecimiento lento, y de hojas simples con flores aglomeradas en las puntas de las ramas de color verdoso, las semillas son rígidas en un tono de color café, este árbol posee un aroma y un sabor dulce por naturaleza que no solo se utiliza para producir goma de mascar sino también se requiere por los abundantes efectos farmacológicos que se pueden obtener de sus diferentes partes tanto como de las hojas, las semillas, o el fruto (Abu *et al.*,2011; Fayek *et al.*,2012; Faicán *et al.*,2019).

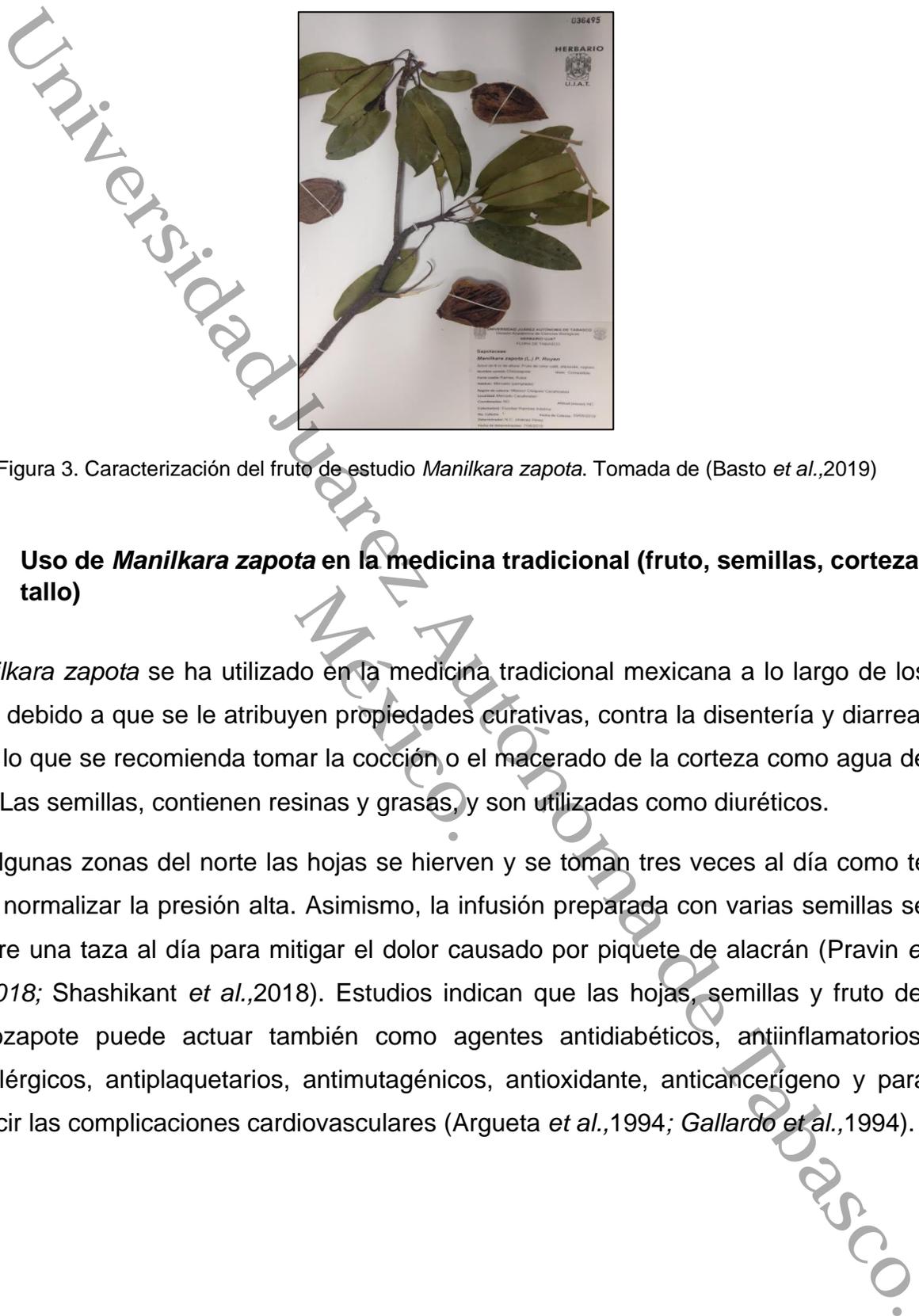


Figura 3. Caracterización del fruto de estudio *Manilkara zapota*. Tomada de (Basto *et al.*,2019)

4.3.1 Uso de *Manilkara zapota* en la medicina tradicional (fruto, semillas, corteza, tallo)

Manilkara zapota se ha utilizado en la medicina tradicional mexicana a lo largo de los años debido a que se le atribuyen propiedades curativas, contra la disentería y diarrea, para lo que se recomienda tomar la cocción o el macerado de la corteza como agua de uso. Las semillas, contienen resinas y grasas, y son utilizadas como diuréticos.

En algunas zonas del norte las hojas se hierven y se toman tres veces al día como té para normalizar la presión alta. Asimismo, la infusión preparada con varias semillas se ingiere una taza al día para mitigar el dolor causado por piquete de alacrán (Pravin *et al.*,2018; Shashikant *et al.*,2018). Estudios indican que las hojas, semillas y fruto del chicozapote puede actuar también como agentes antidiabéticos, antiinflamatorios, antialérgicos, antiplaquetarios, antimutagénicos, antioxidante, anticancerígeno y para reducir las complicaciones cardiovasculares (Argueta *et al.*,1994; Gallardo *et al.*,1994).

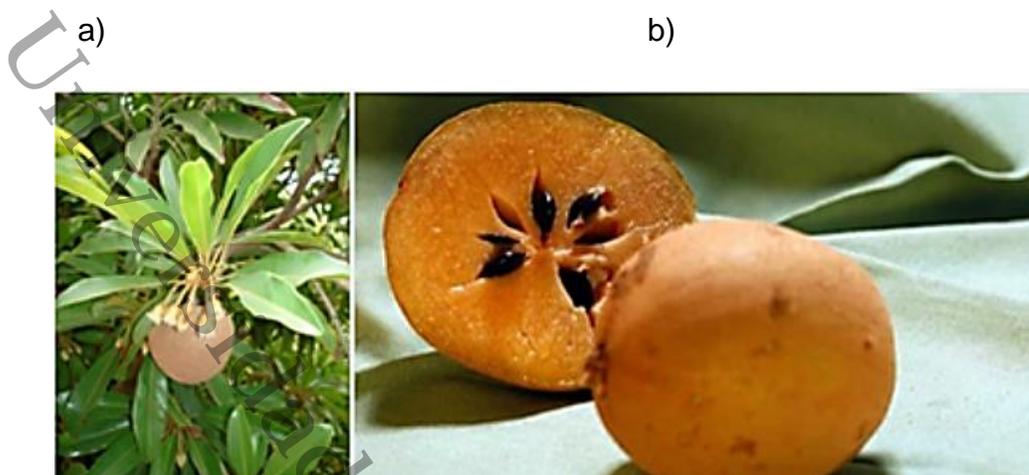


Figura 4. Frutos de *Manilkara zapota*, a) flores, frutos y hojas b) Corte transversal del fruto. Tomado de (Hernández et al.,2019; Quinto et al.,2019)

4.3.2 Estudios fitoquímicos de *Manilkara zapota*

En las investigaciones fitoquímicas de *Manilkara zapota* se han identificado los compuestos fenólicos anisol, benzaldehído, benceno, alcohol bencílico, ácido clorogénico, éter-metílico de eugenol, ácido gálico, 3-fenil-propanol, propofenona, ester-metílico del ácido salicílico tolueno; los monoterpenos car-3-ene y óxido de linalol; el sesquiterpeno cariofileno; los triterpenoides taraxerol y su acetato; los flavonoides leucodefinidín: y el componente azufrado sulfóxido de dimetilo. La pulpa del fruto contiene los triterpenos, hederagenín y ácido oleanólico (Blacpma *et al.*,2022). Mientras que en la semilla podemos encontrar saponina, sapotina, saponinas acras, alcaloides, aceites fijos y la saptinina. En la hoja se han identificado los triterpenos ácidos alfa y beta- amirina, y ursólico; los esteroides daucosterol y beta-sitosterol; y el componente fenólico ácido gentísico (Blacpma *et al.*,2022).

4.3.3 Antecedentes farmacológicos de *Manilkara zapota*

Manilkara zapota posee diferentes efectos farmacológicos debido a las propiedades curativas que posee. Uno de ellos es su actividad antinociceptiva, la cual implica la

liberación de mediadores endógenos del dolor en el sitio afectado. Esta actividad la podemos encontrar en las hojas, y la corteza de esta planta. (Fernández *et al.*,2009; Vela *et al.*,2009; Ibarra *et al.*,2009).

También se ha demostrado que varias partes de la planta (tallo, corteza, hojas, fruto y semillas) poseen efectos antiinflamatorios y antipiréticos, los cuales producen una supresión significativa de la inflamación. (Fernández *et al.*,2009; Vela *et al.*,2009; Ibarra *et al.*,2009).

En el extracto de *M. zapota* (hojas) podemos encontrar efectos metabólicos los cuales incluyen los antihiper glucémicos y antihipercolesterolémicos; en cada uno de los efectos se probó que causan una reducción de niveles normales en ambos casos, por ejemplo; para la antihiper glucemia bajan los niveles de glucosa y para la antihipercolesterolemia baja los niveles de colesterol (Fernández *et al.*,2009; Vela *et al.*,2009; Ibarra *et al.*,2009).

Las investigaciones científicas de las hojas y la corteza de *M. zapota* han reivindicado su tradicionalmente reconocida eficacia en la diarrea, reduciendo este efecto en un 53,57% (Fernández *et al.*,2009; Vela *et al.*,2009; Ibarra *et al.*,2009).

En las hojas, semillas flores y corteza de *M. zapota* se ha encontrado actividad antibacteriana y antifúngica, contra bacterias gram-positivas y gram-negativas, en las cuales se comprueba que existe una disminución de estas al ser comparados con extractos de acetato de etilo, etanol, y acetona (Villegas *et al.*, 2016).

El extracto etanólico de la corteza de *M. zapota* ha demostrado actividad citotóxica y antitumoral sobre varias líneas celulares cancerosas, incluidas HL-60 (líneas celulares de leucemia humana), HT-29 (líneas celulares de cáncer de colon humano), MCF-7 (líneas celulares de cáncer de mama humano), A 431 (Líneas celulares de cáncer de piel humano) y A 549 (Líneas celulares de cáncer de pulmón humano) (Roy *et al.*, 2016; Saikia *et al.*,2016).

Hasta ahora, la actividad antioxidante de la planta ha sido ampliamente estudiada, pero a pesar de que se han encontrado efectos anti proliferativos en extractos de tallo y corteza, la evaluación del extracto de la semilla en líneas celulares de cáncer, no ha sido reportada. (Fernández *et al.*,2009; Vela *et al.*,2009; Ibarra *et al.*,2009).

4.4 Farmacognosia en la actualidad

La farmacognosia ha sido utilizada durante casi 200 años y está enfocada al estudio de medicamentos de forma natural, ha adquirido relevancia, debido al uso de remedios herbales a nivel mundial. Las áreas de investigación en farmacognosia incluyen aspectos de biología celular y molecular en relación con productos naturales, etnobotánica y fitoterapia (Douglas *et al.*,2001).

La farmacognosia se enfoca al estudio de sustancias con efectos terapéuticos, así como también al estudio de moléculas que sirvan como modelo estructural para la síntesis de nuevos compuestos más potentes; y la obtención de sustancias activas como hormonas esteroides, anestésicos locales y antibióticos; además de enfocarse también a la búsqueda de sustancias naturales que pueden ser aplicadas en la industria en general (Cortez *et al.*,2004; Macedo *et al.*,2004; Hernández *et al.*,2004).

4.5 Cromatografía de líquidos acoplada a masas (LC-MS).

La cromatografía líquida de alta resolución o *high performance liquid chromatography* (LC-MS) es un principio de medida que permite separar los componentes de una muestra (analitos) en función de su distribución entre dos fases inmiscibles entre sí: una fase estacionaria (un sólido o un líquido adsorbido sobre un soporte sólido) y una fase móvil (un líquido) (Rigo *et al.*,2018; Canalias *et al.*,2018; Esteve *et al.*,2018). En este tipo de cromatografía, para que tenga lugar el proceso físico-químico de separación, la muestra es inyectada en el seno de la fase móvil, en la que es soluble, e impulsada a una elevada presión a través de una columna que contiene la fase estacionaria. Una vez separados los diferentes analitos en el sistema cromatográfico (eluatados), y en función de sus propiedades físico-químicas, estos pueden ser identificados o cuantificados empleando alguno de los múltiples sistemas de detección existentes. Debido a la elevada capacidad para separar, aislar, identificar y cuantificar que presenta el LC-MS. Los procedimientos de medida basados en esta tecnología (de ahora en adelante, *procedimientos cromatográficos*) llevan años aplicándose en los centros de investigación, en la industria

farmacéutica, en las empresas del diagnóstico *in vitro* o en los laboratorios clínicos para el desarrollo de nuevos fármacos o para la identificación o la medición de nuevas propiedades biológicas (Rigo *et al.*,2018; Canalias *et al.*,2018; Esteve *et al.*,2018).

4.5.1 Componentes del espectrómetro de masas

El principio de la espectrometría de masas se basa en el comportamiento diverso que presentan los iones que se forman por las diferentes técnicas de ionización, al atravesar campos eléctricos y magnéticos (Romero *et al.*,2007; Fernández *et al.*,2007; Plaza *et al.*,2007). Los iones generados son separados en función de su relación masa/carga (m/z) y detectados posteriormente.

La tecnología Q-TOF de ultra alta definición utilizada en este trabajo, permite buscar rápidamente las diferencias en los niveles de expresión entre los grupos de muestras e identificar los posibles biomarcadores en los datos de LC/MS de masa exacta.

Un espectrómetro de masas consta de varios componentes básicos:

- Dispositivo de introducción de la muestra
- Cámara de ionización o fuente, donde se generan los iones a partir de las sustancias químicas a analizar
- Analizador, que diferencia los iones generados en función de su relación m/z
- Detector que produce una señal eléctrica amplificada para cada uno de los iones generados (Romero *et al.*,2007; Fernández *et al.*,2007; Plaza *et al.*,2007). Existen principalmente tres tipos de detectores:

1. Caja de Faraday. Consiste en una caja dentro de la cual se tiene una placa, ligeramente inclinada para evitar la reflexión de iones; al chocar con la placa, los iones toman de estos electrones para neutralizar su carga, y midiendo la corriente electrónica

necesaria para neutralizar a todos los iones, se puede tener una idea bastante exacta del número de iones que han alcanzado la placa.

2. Multiplicador de electrones. Es esencialmente igual a los tubos fotomultiplicadores utilizados para la detección de radiación. Este tipo de detector, utiliza la energía cinética de los iones que inciden sobre una placa que tiene su superficie recubierta por óxidos de tierras raras; al chocar los iones contra la placa, esta emite una corriente de electrones que son acelerados hacia una segunda placa, de la que vuelven a arrancar electrones que son acelerados hacia una tercera placa y así sucesivamente.

3. Detección fotográfica. Se utiliza en muy pocos equipos y únicamente cuando es necesaria una altísima sensibilidad o una extraordinaria resolución.

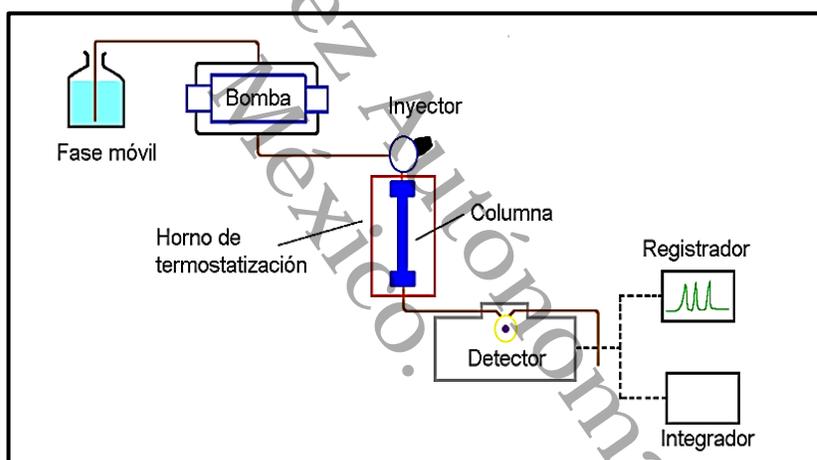


Figura 5. Esquema de un cromatógrafo de líquidos. Tomado de (Romero et al.,2007; Fernández et al.,2007; Plaza et al.,2007).

4.5.2 Inyección de la muestra en LC-MS

Los métodos que se han utilizado en LC-MS utilizan fuentes de ionización por termopulverización (TSP). Así también las técnicas de ionización en la espectrometría de masas acoplada a la cromatografía de líquidos, el TSP ha sido desplazado por las técnicas de ionización a presión atmosférica (API), entre las que destacan la

electropulverización o *electrospray* (ESI) y la ionización química a presión atmosférica (APCI) (Santisteban *et al.*,2003).

La fuente ESI, se utiliza para introducir la muestra líquida a través de un capilar al que se aplica un elevado potencial ($\pm 3-5$ kV), lo que permite producir un spray de microgotas cargadas, las cuales debido a repulsiones electrostáticas se dividen hasta provocar la desolvatación y evaporación de los iones. La fuente ESI trabaja a flujos entre 0,5 y 10 $\mu\text{L min}^{-1}$, aunque se pueden aumentar hasta 300-400 $\mu\text{L min}^{-1}$ utilizando el denominado *ionspray* (ISP), una variante del *electrospray* en la cual la formación del aerosol y la desolvatación están facilitadas por una corriente coaxial de gas. La electropulverización es una técnica de ionización suave, de manera que los iones producidos son principalmente los derivados de la incorporación o cesión de uno o varios protones a las moléculas, aunque también se pueden originar iones correspondientes a aductos con otras especies presentes en la fase móvil (Santisteban *et al.*,2003). En las fuentes de APCI, la fase móvil se introduce a través de una cámara de vaporización cilíndrica que se encuentra a elevada temperatura, lo que provoca la evaporación del efluente cromatográfico. La ionización se induce aplicando un elevado voltaje ($\pm 3-5$ kV) a un electrodo en forma de aguja, lo que produce una corriente de hasta 10 μA . Esta corriente eléctrica origina un plasma de iones de la fase móvil que provoca un proceso de ionización química. La ionización química a presión atmosférica es una técnica de ionización suave, aunque en algunos casos además de los iones correspondientes a la molécula protonada o desprotonada pueden aparecer fragmentos en el espectro (Santisteban *et al.*,2003).

Los avances en espectrometría de masas (MS) han permitido el análisis de proteínas celulares y metabolitos (proteoma y metaboloma respectivamente) en una escala inimaginable (Santisteban *et al.*,2003).

4.6 Factores de transcripción

Los factores de transcripción son proteínas capaces de unirse específicamente a secuencias cortas de ADN (elementos en cis) localizados en los promotores de genes, y de interactuar con el complejo de pre-iniciación de la transcripción para inducir o inhibir la actividad de la enzima ARN polimerasa II. De esta manera, los factores de

transcripción modulan la tasa de transcripción de sus genes blanco a través de un sistema denominado regulón (García *et al.*,2013; Gómez *et al.*,2013; Trejo *et al.*,2013).

Estos factores son proteínas que se unen a elementos específicos presentes en el promotor de un gen blanco. La estructura proteica de un factor de transcripción típico consiste de dos dominios: el dominio de unión al ADN, responsable de unirse a elementos específicos que actúan en cis en las regiones del promotor, y el dominio regulatorio responsable de la regulación transcripcional de los genes blanco, el cual se une a la maquinaria de transcripción. De esta manera, los factores de transcripción inducen (activadores) o inhiben (represores) la actividad de la ARN polimerasa II, y así regulan la expresión genética. En las plantas hay diferentes familias de factores de transcripción, clasificadas con fundamento en su dominio de unión al ADN (García *et al.*,2013; Gómez *et al.*,2013; Trejo *et al.*,2013).

Existen dos tipos de factores de transcripción o elementos reguladores en trans, los factores de transcripción generales, que se unen a secuencias de ADN en la región de control tipo promotora, permitiendo que la ARN pol II forme el complejo de iniciación. El otro tipo de factores de transcripción activadores o represores se unen a regiones de control tipo enhancer o silenciadora (que no permiten la expresión del gen mediante un mecanismo de represión), respectivamente, modulando la formación de un complejo de iniciación (Gutiérrez *et al.*,2019; Calixto *et al.*,2019; Gómez *et al.*,2019).

Los factores de transcripción generales (TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIE, TFIIIF, TFIIH, por sus siglas en inglés) se unen a la secuencia promotora en un orden específico y permiten posicionar la ARN polimerasa II en la ubicación correcta. Además, estos factores separan las dos hebras de ADN para que inicie la transcripción y liberen la ARN polimerasa del promotor y se pueda llevar a cabo la elongación, una vez iniciada la transcripción. La eficiencia de este proceso puede ser baja, por lo cual la cantidad de ARNm sintetizado no es muy alta (Gutiérrez *et al.*,2019; Calixto *et al.*,2019; Gómez *et al.*,2019).

4.6.1 P53

P53 es un factor de transcripción muy a menudo mutado en tumores malignos. Funciona hacia la regulación de importantes actividades celulares, como el ciclo celular, la senescencia y la apoptosis. Dado que la inflamación y el cáncer están fuertemente asociados a través de vías comunes, P53 puede suprimir la inflamación en una gran cantidad de tejidos humanos (Barabutis *et al.*,2018; Schally *et al.*,2018; Siejka *et al.*,2018).

El p53 mutante es muy abundante en los cánceres y los promueve al inhabilitar la función del P53 de tipo nativo o natural, así como mediante procedimientos de "ganancia de función". Este último término se refiere a la acumulación de esas mutaciones P53, que aumentan la capacidad oncogénica del P53 mutado y brindan una resistencia tumoral más fuerte en los tratamientos contra el cáncer (Barabutis *et al.*,2018; Schally *et al.*,2018; Siejka *et al.*,2018).

El gen supresor de tumores TP53 es uno de los genes más importantes y estudiados en la genética del cáncer, ya que se encuentra mutado en más del 50% de todos los tipos de cáncer humano y codifica para una proteína multifuncional cuya deficiencia contribuye a la inestabilidad genómica que conduce a la acumulación de mutaciones y a la aceleración en el desarrollo del tumor (Rangel *et al.*,2006; Piña *et al.*,2006; Salcedo *et al.*,2006). Este gen da origen a una proteína que se encuentra en el núcleo de las células y cumple una función importante en el control de la división y destrucción de las células. Es posible que las mutaciones (cambios) en el gen *p53* hagan que las células cancerosas se multipliquen y se diseminen por el cuerpo. Estos cambios se han encontrado en una afección genética llamada síndrome de Li-Fraumeni y en muchos tipos de cáncer. El gen *p53* es un tipo de gen supresor de tumores. También se llama gen de la proteína tumoral p53 y gen TP53 (Instituto Nacional del Cáncer., 2022).

La proteína humana p53 está involucrada en un amplio espectro de eventos celulares que van desde la regulación de la glicólisis y autofagia, reparación del daño del ADN, supervivencia celular y regulación del estrés oxidativo, angiogénesis, diferenciación, proliferación, muerte y senescencia celular, hasta la remodelación ósea. Para ello,

interactúa directamente con el ADN (como factor de transcripción) y con un conjunto de proteínas, además de ser el blanco de variadas vías de señalización, a través de las cuales se regula su actividad.

4.6.1.1 Estructura de la proteína p53

P53 es una fosfoproteína homotetramérica, formada por 393 aminoácidos y cuatro dominios funcionales: Dominio de transactivación, este dominio, entre los aminoácidos 1 y 42 del extremo amino-terminal, a través del cual interactúa con la proteína mdm2.

Dominio rico en prolina: conservado en la mayoría de las especies. Localizado entre los aminoácidos 40 y 92, contiene a su vez un segundo dominio de transactivación.

Dominio de unión al ADN, se encuentra entre los aminoácidos 101 y 306. Comprende las regiones de alta disociación inducida por colisión de alta energía (HCD) II, III, IV y V, lo que explica similitud de funciones entre especies, es el sitio de ocurrencia del 90% de las mutaciones halladas en los tumores cancerosos humanos.

Dominio de oligomerización, entre los aminoácidos 307 y 355. Contiene una región translocación Ten-Eleven de 2-oxoglutarato y di oxigenasa dependiente de hierro llamada TET, con secuencias de aminoácidos señalizadores de la localización nuclear (NLS) o citosólica (NES) de la proteína. Su estructura secundaria corresponde a una lámina β , seguido por una α -hélice, necesaria para la dimerización de p53.

Dominio carboxi-terminal, extendido entre los aminoácidos 356 y 393. Con tres señales NLS y un dominio que reconoce sitios de daño del ADN, este dominio también está implicado en la actividad de regulación negativa del dominio de unión con el ADN localizado entre los aminoácidos 101 y 306 (Chuaire *et al.*,2008; Sánchez *et al.*,2008; Ramírez *et al.*,2008).

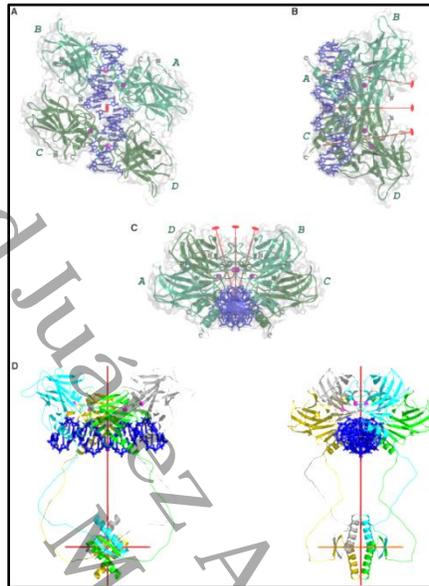


Figura 6. Las cuatro interfases proteína-ADN. Tomado de (Chuaire et al.,2008; Sánchez et al.,2008; Ramírez et al.,2008).

El tetrámero del dominio central de p53 y cada uno de los dos dímeros del dominio central de p53 (denominados tetrámero central y dímero central, respectivamente) muestran una simetría que coincide con la del ADN: una díada central, par de cromátidas unidas por el centrómero, (Glosarios especializados., 2015), posicionada entre los semi sitios del ADN y una díada dentro de cada medio sitio. En esta configuración, la distancia entre los dímeros del núcleo es de $\sim 35 \text{ \AA}$, y se giran entre sí 33° en el sentido de las agujas del reloj, lo que da lugar a una imagen similar a una hélice del tetrámero del núcleo cuando se ve desde el eje de la hélice del ADN (Fig. 6C). Esta geometría particular de interdímero se adapta a la deformación del ADN y permite interacciones proteína-proteína entre los dímeros centrales a lo largo de la hélice del ADN (Fig. 6). Aunque los complejos actuales entre tetrámeros p53 y diferentes objetivos de ADN muestran una arquitectura general común, es probable que se produzcan variaciones en el ensamblaje de dímeros en

tetrámeros cuando los semi sitios de ADN son contiguos o están separados por un número diferente de pares de bases (Kitayner *et al.*,2006; Rozenberg *et al.*,2006; Kessler *et al.*,2006).

4.6.2 P21

La proteína reguladora de la progresión del ciclo celular p21 es un inhibidor de cinasas dependientes de ciclina (CDK) compuesta por 591 aminoácidos. P21 funciona como un inhibidor del ciclo celular y un efector antiproliferativo en células normales, y está desregulado en algunos cánceres. Esta proteína se localiza exclusivamente en la superficie interna de la membrana celular; actuando como un interruptor molecular binario que, al enviar una señalización a la célula, influencia la apoptosis y su crecimiento celular (Shamloo *et al.*,2019; Usluer *et al.*,2019).

El desequilibrio entre la proliferación celular y la muerte celular (apoptosis) conduce a la tumorigénesis. Se descubrió que p21, un inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina (cdk) bien establecido, desempeña un papel importante en el control de la progresión del ciclo celular. En 1994, se introdujo p21 (también conocido como factor de activación de tipo 1 / proteína inhibidora de quinasa dependiente de ciclina-1 o WAF1 / CIP1) como supresor de tumor en células de cáncer de cerebro, pulmón y colon; Se demostró que p21 induce la supresión del crecimiento tumoral a través de la actividad de p53. Si bien no se encontró que la alteración de p21 sea responsable del desarrollo en ciertos tipos de cáncer, como en el de ovario o de mama, que hubo evidencia que respalda el escenario inverso en otros tipos de tumores como el carcinoma de tiroides o endometrial. Un estudio preliminar sobre el carcinoma de pulmón de células no pequeñas mostró que p21 se sobre expresa en tumores bien diferenciados (Shamloo *et al.*,2019; Usluer *et al.*,2019).

Los aspectos controvertidos de p21 se deciden por la ubicación de p21 y la condición de este en la proteína p53, la cual es la más mutada en el cáncer pediátrico y adulto, e induce la expresión de p21, en respuesta al estrés celular, como el daño del ADN o el

estrés oxidativo. Además de la detención del ciclo celular, p21 juega un papel importante en la senescencia a través de vías dependientes de p53 e independientes de p53.

También p21 regula varios programas celulares como la apoptosis, la respuesta al daño del ADN y la remodelación del citoesqueleto de actina. Dicho esto, el efecto de p21 sobre la evolución de los tumores cancerosos depende en gran medida del estado de la proteína p53 en las células cancerosas. Aunque la inducción de p21 es dependiente de p53 en determinadas condiciones, como el daño del ADN, existen varios escenarios en los que el patrón de expresión de p21 es independiente de p53, como el desarrollo normal de tejidos, la diferenciación celular o la estimulación sérica posterior. En respuesta a la actividad del factor de transcripción de p53, la inducción de p21 podría conducir a la detención del crecimiento tumoral mediante la inhibición del complejo ciclina-quinasa, el antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA), los factores de transcripción y los coactivadores. Por otro lado, p21 puede dirigir la evolución del tumor hacia el crecimiento del cáncer al ralentizar la acumulación de daño en el ADN. Se ha demostrado que la inducción de p21 es crucial para promover la motilidad y la tumorigénesis de las células cancerosas. Por tanto, p21 puede ser una proteína oncogénica o un supresor de tumores, dependiendo de su localización en el citoplasma o en el núcleo, respectivamente. Esta controversia en torno a las funciones de p21 en la evolución del cáncer hace que sea más difícil encontrar el equilibrio adecuado en el que la función de p21 impediría selectivamente la progresión del cáncer (Shamloo *et al.*,2019; Usluer *et al.*,2019).

4.6.2.1 Actividad de P21 en el núcleo y citoplasma

La figura 7 a través de la fase G1 muestra las actividades de p21 en el núcleo y el citoplasma. A) bajo ciertas condiciones, p21 promueve la actividad quinasa de la quinasa dependiente de ciclina 4 (CDK4) o CDK6 en complejo con ciclina D, promoviendo así la progresión a través de G1. p21 inhibe CDK2-ciclina E, con la consiguiente inhibición de la fosforilación de RB (gen supresor de tumores) (Rangel *et al.*,2006; Piña *et al.*,2006;

Salcedo *et al.*, 2006) dependiente de CDK2 y el secuestro de E2F1, inhibiendo así la transcripción del gen dependiente de E2F1 y la progresión hacia y a través de la fase S.

P21 también inhibe la actividad quinasa de CDK2-ciclina A y CDK1-ciclina A, que son necesarias para la progresión a través de la fase S y hacia G2 respectivamente. Además, p21 inhibe la actividad quinasa de CDK1-ciclina B1, inhibiendo así la progresión a través de G2 y G2 / M. B) A través de su dominio carboxilo-terminal, p21 se une e inhibe el antígeno nuclear de células proliferativas (PCNA), inhibiendo así la síntesis de ADN procesivo y modulando las vías de reparación del ADN dependiente de PCNA. C) p21 puede inhibir la actividad transcripcional de los factores de transcripción E2F1, STAT3 (transductor de señal y activador de la transcripción 3) y MYC mediante la unión directa y la inhibición de su sitio de transactivación. Esto explica algunos de los efectos antiapoptóticos de p21, que pueden contribuir a su actividad oncogénica. D) La fosforilación de p21 en Thr145 mediante AKT1 activada (también conocida como PKB) aguas abajo de ERBB2 (un miembro de la familia de receptores del factor de crecimiento epidérmico de receptores tirosina quinasa) o IKK β (inhibidor del factor nuclear- κ B quinasa- β) previene la translocación nuclear de p21. La p21 citoplasmática exhibe actividad antiapoptótica debido a la inhibición de proteínas implicadas en la apoptosis. No está claro si la fosforilación de p21 por AKT1 solo funciona para retener p21 en el citoplasma o también es necesaria para sus actividades citoplasmáticas. (Abbas *et al.*,2009; Dutta *et al.*,2009).

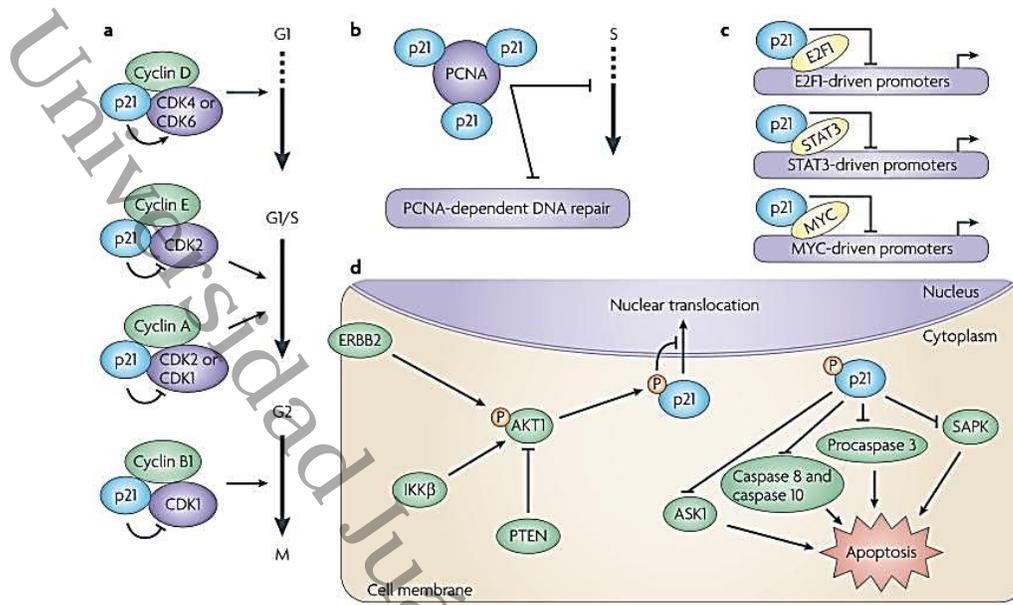


Figura 7. Actividades de p21 en el núcleo y el citoplasma. Tomada de (Abbas et al.,2009; Dutta et al.,2009).

P21 se destacó como mediador de la actividad supresora de tumores de p53 y como inhibidor de la progresión del ciclo celular debido a su capacidad para inhibir la actividad de los complejos de quinasa dependiente de ciclina (CDK) y del antígeno nuclear de células proliferantes (PCNA).

La actividad supresora de tumores de p21 se deriva de su papel en la inducción de la detención del crecimiento, la diferenciación o la senescencia. Recientemente, se ha hecho evidente que p21 es estimulado por muchas vías que son independientes de p53.

- p21 regula directamente la expresión génica y otros eventos celulares a través de interacciones proteína-proteína que son independientes de las CDK y PCNA.
- Múltiples factores de transcripción, ligasas y proteína quinasas regulan la transcripción, estabilidad y localización celular de p21 regulando así su actividad.

- Los datos recientes sugieren un papel tumorigénico de p21 en ciertos contextos que se basan en su capacidad para suprimir la apoptosis y promover el ensamblaje de ciclinas de tipo D con CDK4 y CDK6.
- Dado que p21 es un supresor de tumores, pero que se comporta como un oncogén en ciertos contextos celulares, apuntar a p21 o factores que regulan su actividad para la intervención terapéutica es una tarea prometedora pero desafiante (Abbas *et al.*,2009; Dutta *et al.*,2009).

4.7 Estudios *in silico*.

El acoplamiento molecular (por sus siglas en inglés *docking*) es una técnica de mecánica molecular ampliamente utilizada para predecir energías y modos de enlace entre ligando y proteínas, esta información es de gran utilidad en el estudio de nuevos compuestos con efectos terapéuticos. No obstante, los resultados obtenidos mediante esta técnica tienden a la subjetividad, debido a que los programas utilizados para llevarla a cabo proporcionan más de un criterio de selección de la mejor pose. (Velásquez *et al.*,2013; Pinzi *et al.*,2019; Rastelli *et al.*,2019).

El acoplamiento molecular comúnmente emplea dos algoritmos por separado. Un primer algoritmo de muestreo que predice todas las configuraciones o conformaciones estructurales (pose) que el ligando puede asumir dentro de un dominio o sitio activo en el blanco proteico, y un segundo algoritmo con una función de puntuación que predice las energías de unión entre el ligando y el receptor para cada una de las configuraciones establecidas por el primer algoritmo. Posteriormente, con base en la función de estos dos algoritmos, todas las configuraciones de unión del ligando y su receptor son clasificadas (o jerarquizadas) de acuerdo a sus energías de unión. Por tanto, las funciones de puntuación son capaces de filtrar compuestos a partir de grandes bases de datos en una búsqueda virtual, donde la configuración de un compuesto con el más alto puntaje debería corresponder a la configuración con una energía de unión más favorable, para que este compuesto pueda ser considerado como un potencial cabeza de serie

o lead (Ballón *et al.*,2019; Grados *et al.*,2019) (Ferreira *et al.*,2015; Dos Santos *et al.*,2015; Oliva *et al.*,2015).

El *docking* molecular puede ser aplicado con dos enfoques distintos. El primero de ellos describe la proteína y el ligando como superficies complementarias. El segundo intenta recrear las energías de interacción entre ambas moléculas en su proceso de acoplamiento. Ambos enfoques tienen ventajas y limitantes que mejoran la unión ligando-receptor aumentando su actividad biológica (Rojas *et al.*,2018).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

V. JUSTIFICACIÓN

Se conoce actualmente que los fármacos utilizados en el tratamiento del cáncer producen efectos secundarios severos en la salud del paciente (Organización mundial de la salud., 2022), además de que no son 100% efectivos, son también inespecíficos, debido a que tienen efecto sobre células sanas, por lo que se requiere la búsqueda e identificación de moléculas que presenten propiedades antiproliferativas que no posean tantos efectos adversos. Debido a lo anterior y considerando el contenido rico de metabolitos como fenoles y moléculas antioxidantes presentes en *Manilkara zapota* y por resultados preliminares que muestran actividad antiproliferativa en la semilla, es de nuestro interés identificar a la o las moléculas responsables de la actividad antiproliferativa presentada en la semilla de *Manilkara zapota*, mediante el uso de técnicas analíticas como cromatografía HPLC, LC/MS. La interacción entre las moléculas identificadas y los factores de transcripción p53 y p21 se evaluará mediante ensayos de *docking* molecular, considerando los datos cristalográficos obtenidos de Protein Data Bank (PDB) para las proteínas. Estos ensayos nos permitirán identificar a una o varias moléculas candidatas y proponerlas como un potencial fármaco contra el cáncer de colon y/o próstata, entre otros (Medina *et al.*,2018; George *et al.*,2018; Medina *et al.*,2018).

VI. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Los compuestos presentes en el extracto de *Manilkara zapota* podrían tener la capacidad de unirse a factores de transcripción como las proteínas P53 y/o P21 y representar una fuente de moléculas con potencial actividad anticancerígeno?

VII. HIPÓTESIS O SUPUESTO

La semilla de *Manilkara zapota* contiene metabolitos secundarios capaces de interactuar con factores de transcripción como p53 y p21 involucrados en el desarrollo del cáncer.

VIII. OBJETIVO GENERAL

Realizar un análisis cualitativo de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Manilkara zapota* mediante LC/MS, determinar la interacción molecular con los factores de transcripción P53 y P21, involucrados en el desarrollo del cáncer, utilizando el acoplamiento molecular (*docking*).

IX. OBJETIVOS ESPECIFICOS

-Obtener el extracto hidroalcohólico de la semilla de *Manilkara zapota*

-Inyectar, procesar y obtener datos del extracto hidroalcohólico de *Manilkara zapota* utilizando LC/MS.

-Seleccionar las moléculas (metabolitos secundarios) que están presentes en los extractos de la semilla de *Manilkara zapota*.

-Buscar la estructura y datos cristalográficos de los factores de transcripción p53 y p21 del protein data bank.

-Realizar las fragmentaciones adecuadas de las moléculas que se seleccionaron para la evaluación de su estructura química en el programa chemdraw.

-Realizar el *docking* molecular, de las moléculas que se seleccionaron de la semilla de *Manilkara zapota*, frente los datos cristalográficos de los factores de transcripción P53 y P21, utilizando los programas open babel, maestro software, y auto dock vina.

-Obtener la información del genoma humano, de los factores de transcripción p53 y p21 para determinar el sitio de unión al que pertenecen con respecto a los residuos de aminoácidos de los metabolitos seleccionados.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

X. MATERIALES Y METODOS

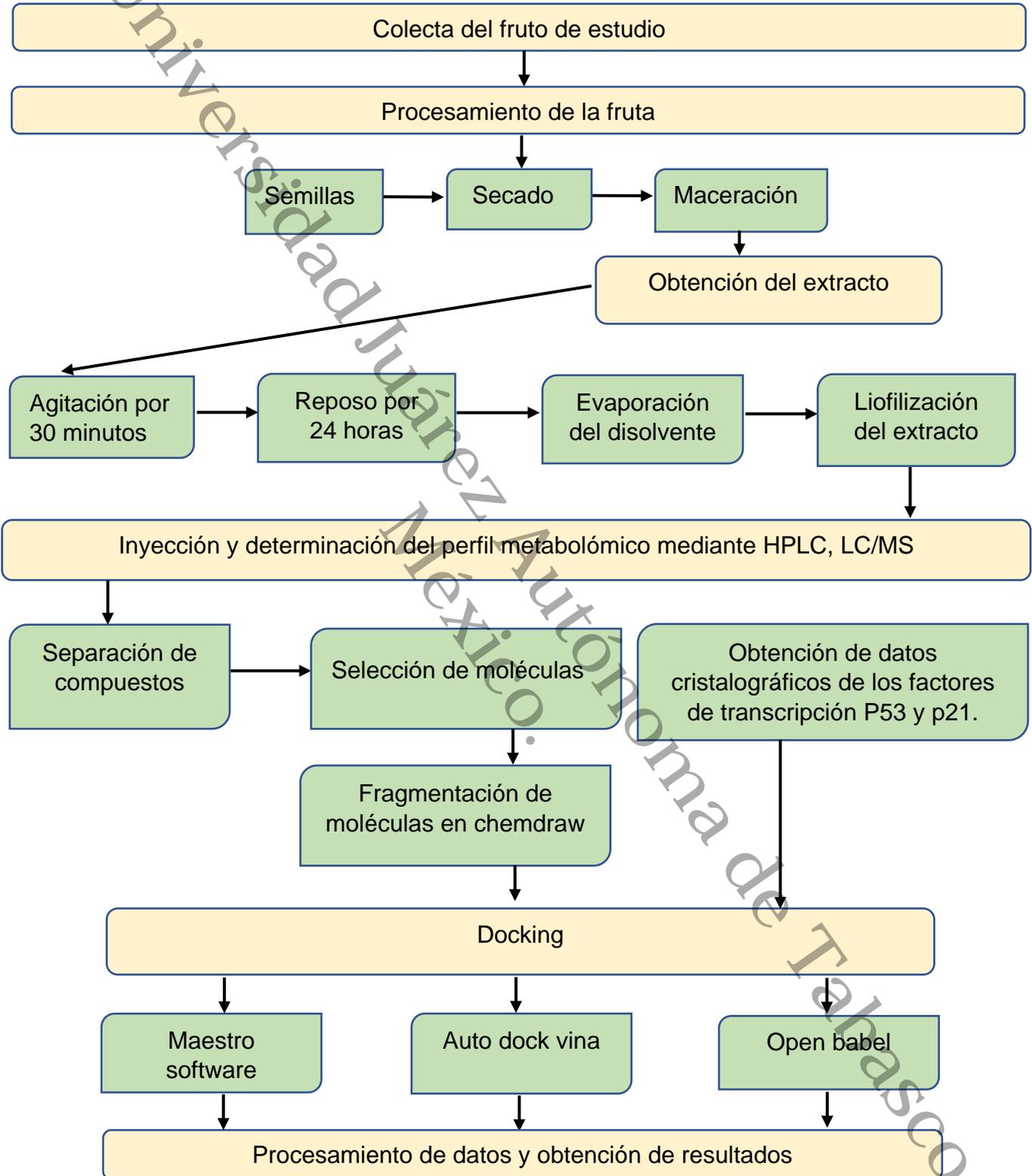


Figura 8. Esquema de la metodología general.

10.1 Colecta del fruto

Los frutos de *Manilkara zapota* fueron recolectados en la localidad de Cacahoatan, Chiapas, el 29 de mayo del 2019, y caracterizados por el herbario de la División Académica de Ciencias Biológicas (DACBIOL), con No. de Herbario UJAT 36495 para su estudio. Este se procesó para ser lavado con extran-agua al 0.1%, y posteriormente se lavó con abundante agua corriente y después con agua destilada.

10.2 Procesamiento de la semilla

La cascara, la pulpa y la semilla del chicozapote se separaron, posteriormente las semillas fueron lavadas con abundante agua corriente y agua destilada, para eliminar por completo residuos de la pulpa, posteriormente se realizó la deshidratación de las semillas en una estufa a temperatura constante de 60°C durante 4 días, pasado el tiempo indicado se pulverizaron estas en un mortero hasta obtener un polvo fino del cual se pesó 50g de lo obtenido en la balanza analítica V204 marca Velab, seguidamente se colocó en un frasco para macerarlas con una mezcla hidroalcohólica de metanol al 80%.

10.3 Obtención de los extractos

El extracto del cual partimos para la realización de este proyecto se obtuvo como lo indica (Basto *et al.*,2019).

Se empleó el método de extracción discontinua por maceración descrito por Kuklinski en 2003, la técnica indica que se debe emplear agua, glicerina o mezclas hidroalcohólicas, por lo que se realizaron modificaciones al proceso, y solo algunos extractos fueron hidroalcohólicos y se realizaron en metanol absoluto. En un mortero se colocó la materia prima, 50 g de las semillas con 200 mL de la mezcla hidroalcohólica (metanol 80%) respectivamente, dejándose en contacto hasta lograr la máxima extracción. Seguidamente se colocaron en matraces Erlenmeyer, se dejaron a temperatura ambiente agitando durante 30 minutos en una parrilla eléctrica Ms-H280-pro marca DLAB y posteriormente se dejó reposar durante 24 horas, concluido ese tiempo se decantó

solamente el metanol en otro matraz Erlenmeyer. El residuo o marco de cada extracto se le añadió nuevamente 200 mL de la mezcla hidroalcohólica a las semillas. Este proceso se repitió durante cuatro días para mejorar el rendimiento de la extracción, todos los disolventes recolectados se mezclaron. Los extractos metanólicos e hidroalcohólicos se llevaron al rotavapor marca LabTech, el cual, mediante una destilación al vacío, permitió la evaporación rápida del disolvente presente en nuestros extractos, recuperando el extracto líquido concentrado (Fig. 9).



Figura 9. Extracto de la semilla de *Manilkara zapota*. Tomado de (Basto et al.,2019).

Finalmente, para eliminar el exceso de agua de cada extracto, se liofilizaron con un equipo Alpha 2-4 LSC basic Martin Christ (Fig. 10).



Figura 10. Liofilización del extracto hidroalcohólico de *Manilkara zapota*. Tomado de (Basto et al.,2019).

10.4 Determinación del perfil metabolómico mediante LC-MS de *Manilkara zapota*

Para realizar el estudio metabólico vamos a utilizar el sistema de cromatografía de líquidos de alta resolución serie 1210 Agilent acoplado a un detector que posee una alta resolución Agilent 6545 qTOF, y este se utiliza por su potente capacidad analítica.

Después de conocer el equipo a utilizar se procedió a la separación de los compuestos de la muestra, en este caso se filtró el extracto de la semilla de *Manilkara zapota* obtenido, en un filtro de 0.22 μ el filtrado se inyectó en el equipo utilizando como fase estacionaria una columna (OOB-4622-AN, Kinetex 0.2 μ m Biphenyl 100^a 50x2.1mm) y como fase móvil metanol al 0.1% (v/v). Se modificó lo que tenía las condiciones adecuadas para obtener una alta resolución y precisión de los compuestos usando un método isocrático o de gradiente. La actividad del detector del equipo Agilent 6545 qTOF se operó bajo las condiciones siguientes: Para identificar los componentes que se analizaron se realizó una búsqueda mediante espectros de masas, usando un software de análisis donde se adquieren datos de alta calidad y convertirlos en respuestas definitivas: Agilent MassHunter Workstation. Se seleccionaron los metabolitos secundarios de forma cualitativa, obtenidos del LC-MS, de la especie vegetal de *Manilkara zapota*.

10.5 Obtención de los datos cristalográficos del protein-data bank para p53 y p21.

Para la obtención de los datos cristalográficos de las proteínas, se realizó una búsqueda en la plataforma protein-data bank, en el cual se colocó el nombre de cada una de las proteínas (p53 y p21) de humano en el buscador y se descargó un archivo en PDF con la información requerida y la estructura de cada una de ellas para ser utilizadas más adelante en el acoplamiento molecular (docking). Las estructuras descargadas fueron para p53 (1TUP) y para p21 (4NJD).

10.6 Obtención de las moléculas identificadas en el LC-MS

Para identificar las moléculas utilizadas se realizó una tabla que contiene la evaluación de las fragmentaciones de los compuestos seleccionados a través del programa Chemdraw, al igual que su relación m/z, su ion molecular y su tiempo de retención.

10.7 Docking molecular

Se procedió a realizar el acoplamiento molecular de las estructuras de los metabolitos secundarios obtenidos de *Manilkara zapota* versus la estructura molecular de los factores de transcripción p21 y p53. Se utilizó equipo de cómputo de la marca hp, utilizando los programas maestro software, Autodock vina y open babel los cuales fueron instalados en el equipo de cómputo mencionado anteriormente.

Los factores de transcripción se modelan en un software para modelado de compuestos, y se optimiza su geometría molecular en un campo de fuerza de estudios biomoleculares, las macromoléculas p21 y p53. El acoplamiento molecular in silico se realizó con los datos obtenidos del programa Chemdraw, y con los datos de la estructura cristalográfica de los factores de transcripción p53 y p21, usando un algoritmo de búsqueda conformacional de tipo genético (Autodock Vina). (Velasquez *et al.*,2013; Drosos *et al.*,2013; Gueto *et al.*,2013).

10.8 Obtención de la información del genoma humano para 1TUP (p53) y 4NJD (p21).

Se realizó una búsqueda en la plataforma NCBI sobre el genoma humano (homo sapiens), para cada proteína. En la plataforma se colocó el nombre de la proteína (p53 o p21) con la palabra homo sapiens, seleccionando la opción correspondiente y se descargó un archivo con la secuencia del mismo para identificar en primer lugar la secuencia de la proteína, y en segundo lugar para identificar a los aminoácidos que constituían los diferentes sitios de unión importantes en la proteína, como por ejemplo su sitio de unión al ADN, su sitio de transactivación, el sitio NLS o de localización nuclear si era el caso, entre otros sitios importantes en las proteínas p53 y p21.

XI. RESULTADOS

11.1 Moléculas de interés presentes en la semilla de *Manilkara zapota*

En el siguiente cromatograma podemos observar la presencia de las moléculas presentadas por el equipo de LC-MS. Los picos más definidos de este grafico dan como resultado las moléculas presentes en el extracto hidroalcohólico de la semilla de *Manilkara zapota*.

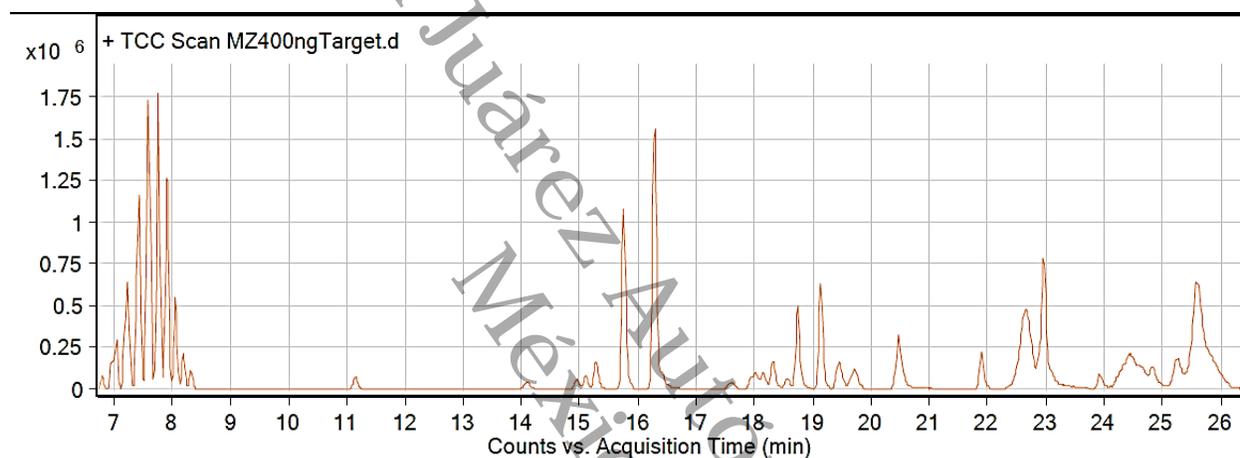


Figura 11. Cromatograma general del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Manilkara zapota*.

11.2 Moléculas identificadas en el LC-MS

Para tener conocimiento de algunas de las propiedades de los compuestos seleccionados, primero se analizaron una serie de cromatogramas los cuales se muestran a continuación, en estos cromatogramas identificamos las moléculas que se analizaron obteniendo como resultado el nombre de cada una de ellas y la relación posible que pueden tener estas moléculas con el extracto de la semilla de *Manilkara zapota*. Cabe mencionar que las 9 moléculas identificadas se evaluaron a través de archivos que el equipo de Hplc masas nos proporcionó para su comparación.

A continuación, mostramos los cromatogramas de las 9 moléculas seleccionadas.

MFE MS Zoomed Spectrum

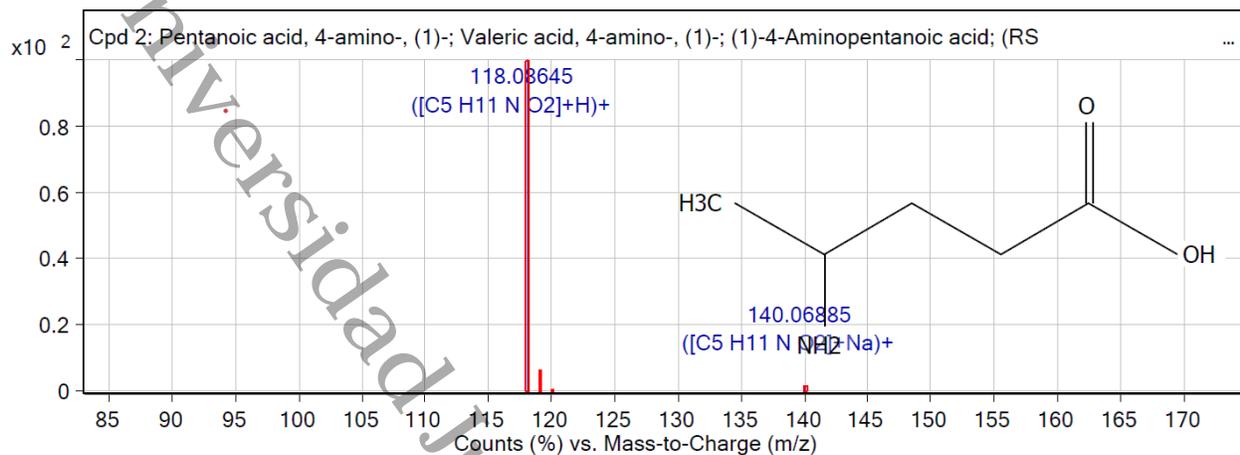


Figura 12. Cromatograma del ácido pentanoico, 4-amino.

MFE MS Zoomed Spectrum

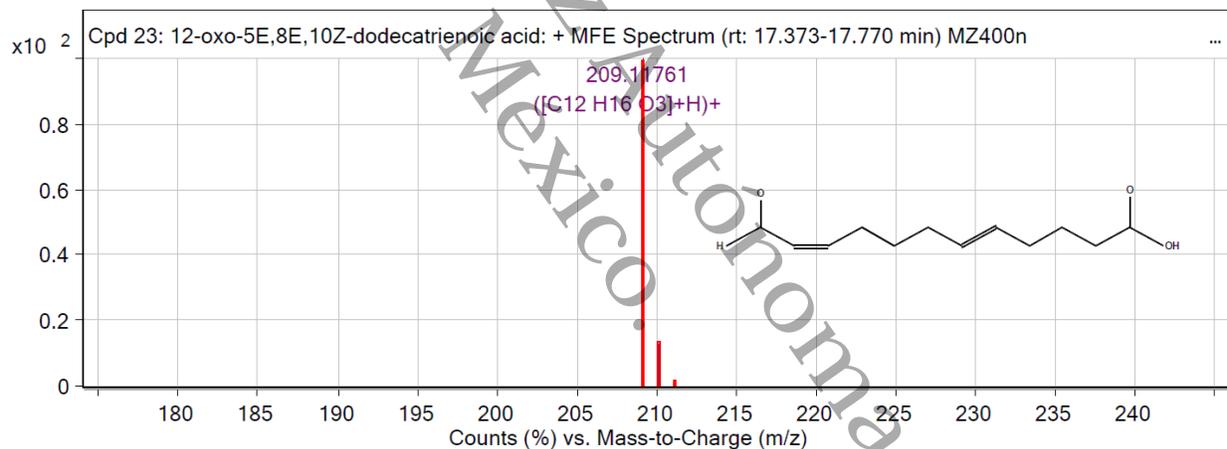


Figura 13. Cromatograma del ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienoico

MFE MS Zoomed Spectrum

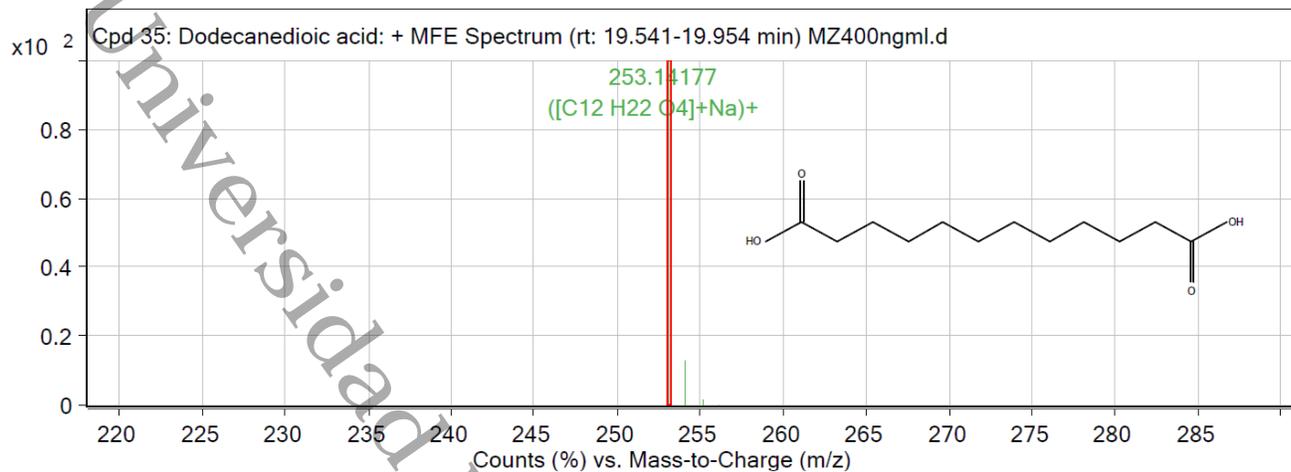


Figura 14. Cromatograma del ácido dodecanodioico.

MFE MS Zoomed Spectrum

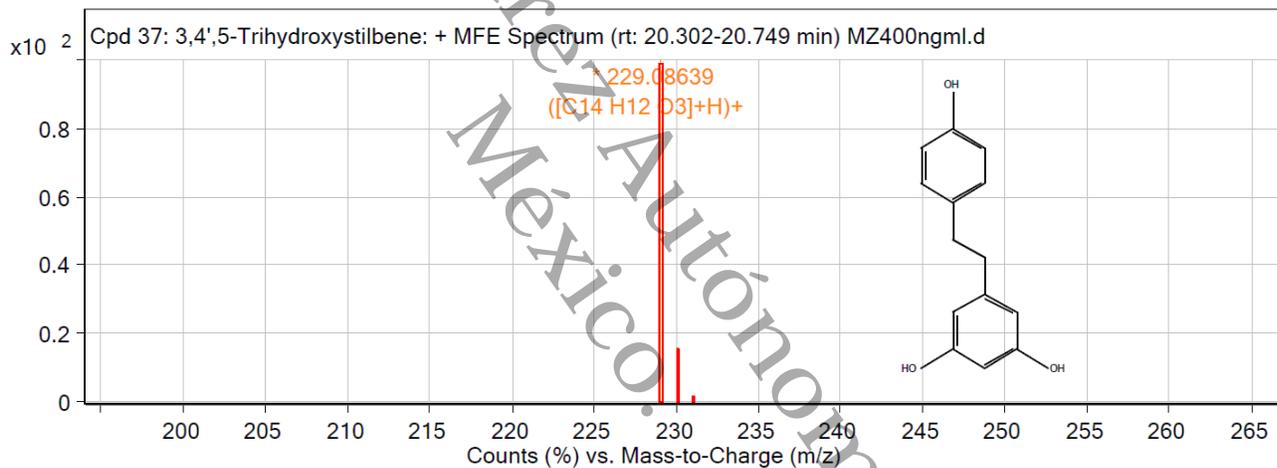


Figura 15. Cromatograma de la molécula 3,4',5-trihidroxisilbeno (resveratrol).

MFE MS Zoomed Spectrum

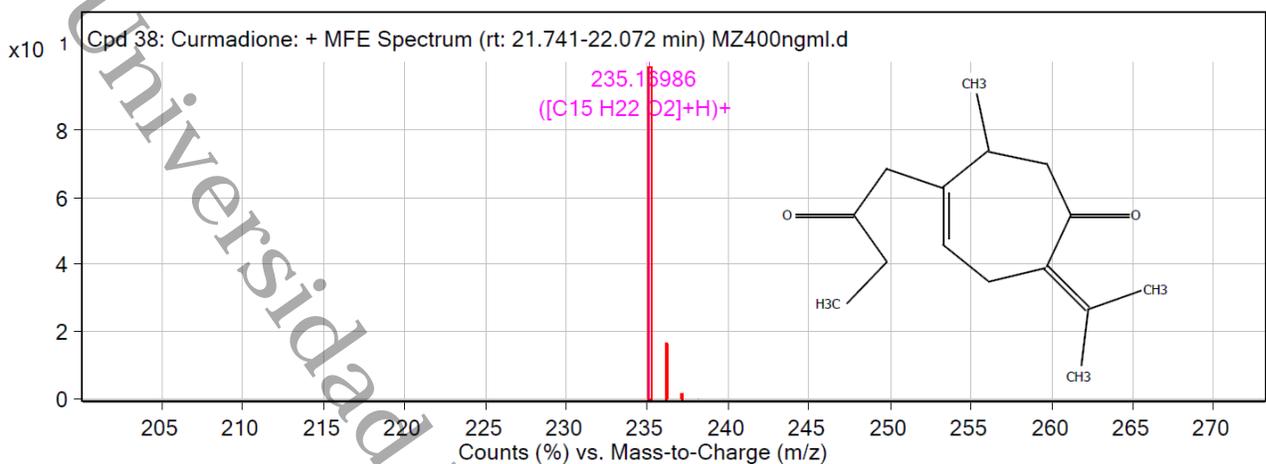


Figura 16. Cromatograma de la molécula curmadiona.

MFE MS Zoomed Spectrum

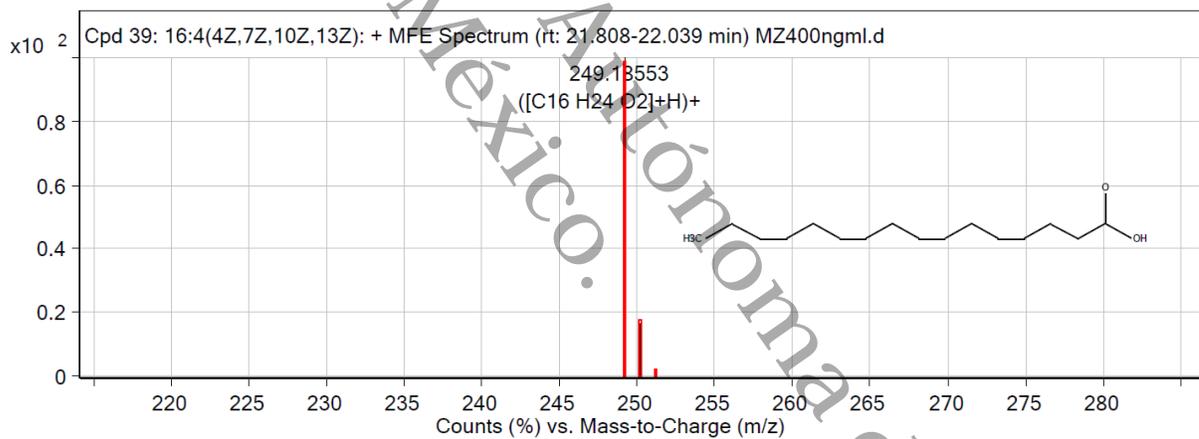


Figura 17. Cromatograma de la molécula 16:4(4Z,7Z,10Z,13Z) ácido hexadeca-tetraenoico.

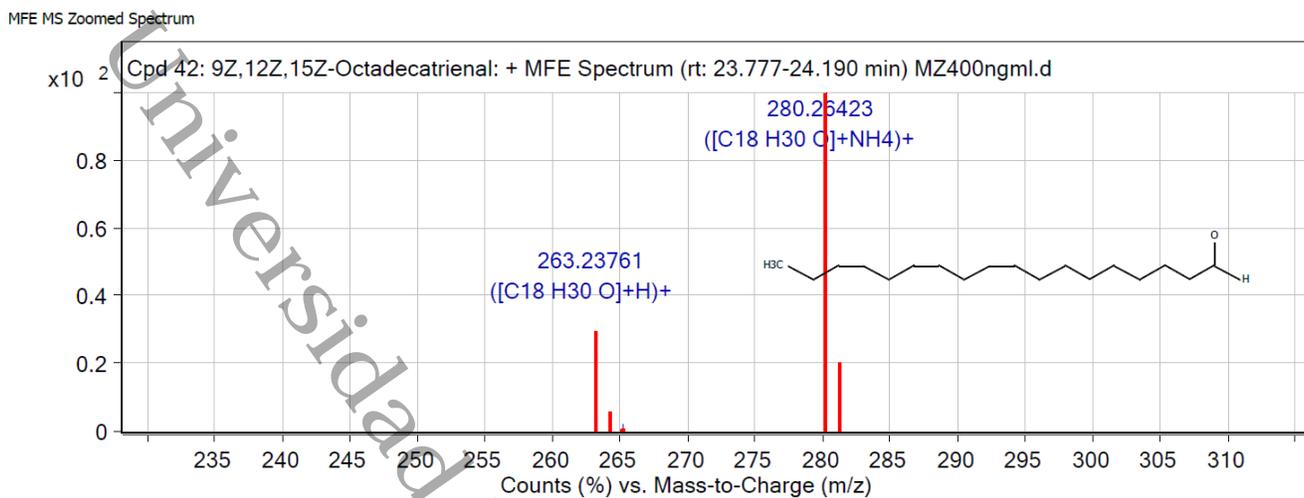


Figura 18. Cromatograma de la molécula 9Z,12Z,15Z-octadecatrienal.

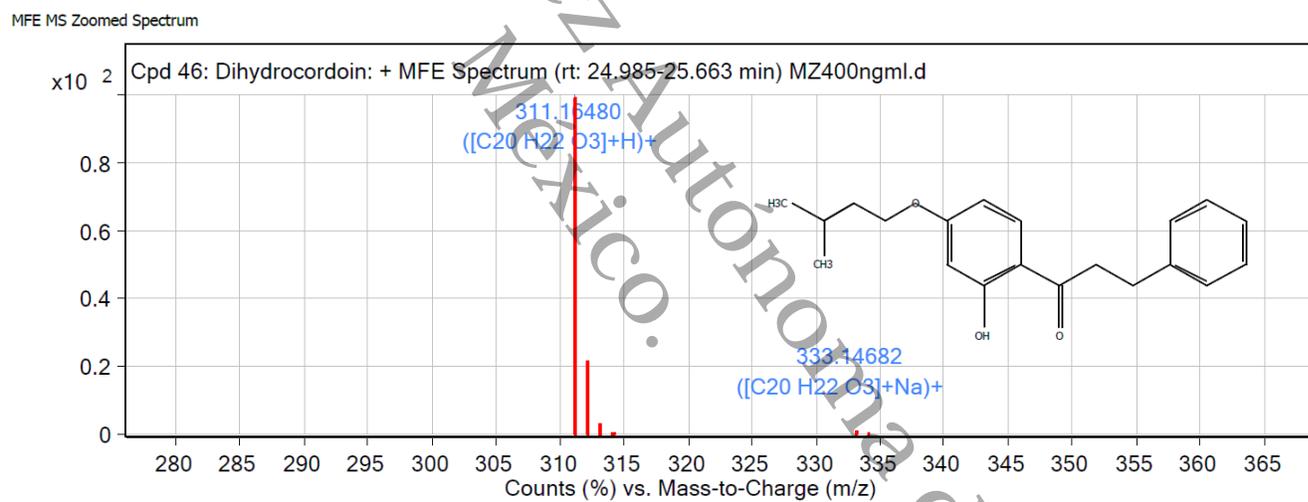


Figura 19. Cromatograma de la molécula dihidrocodeína.

MFE MS Zoomed Spectrum

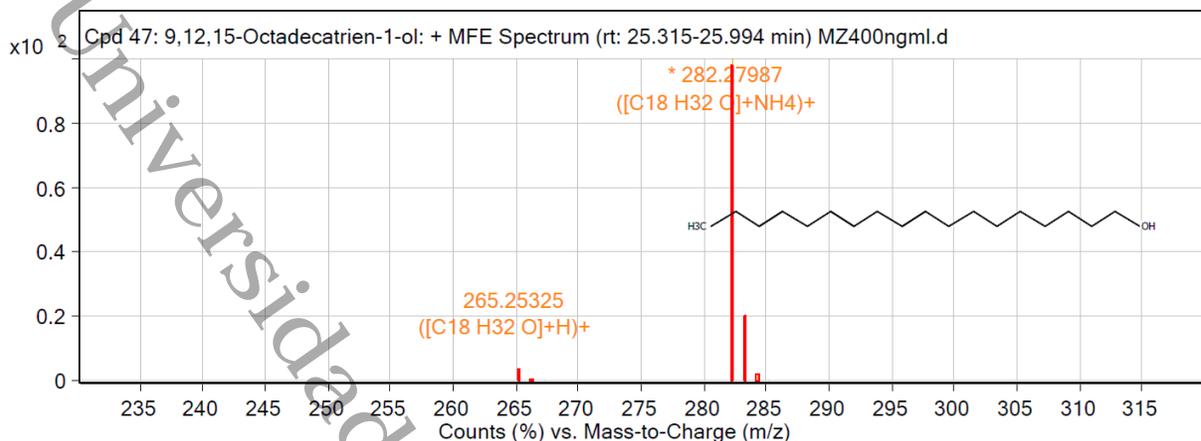
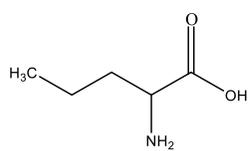
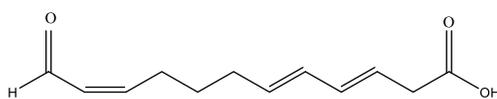


Figura 20. Cromatograma de la molécula 9E,12E,15E-octadecatrien-1-ol.

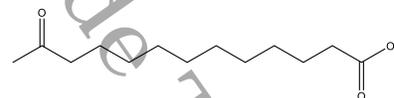
Posteriormente se procedió a la evaluación de estas moléculas para identificar, su nombre, tiempo de retención, fórmula molecular, tipo de ion, relación masa/carga y la fragmentación de cada uno de los compuestos. Las fragmentaciones se elaboraron en el programa Chemdraw con apoyo de las diferentes herramientas que se utilizan como son el enlace sólido, enlaces múltiples, benceno, herramientas de fragmentación, elementos de dibujo y borrador, para obtener cada una de las propiedades antes mencionadas. A continuación, se muestran las estructuras de las moléculas seleccionadas y sus fragmentaciones realizadas.



(1)



(2)



(3)

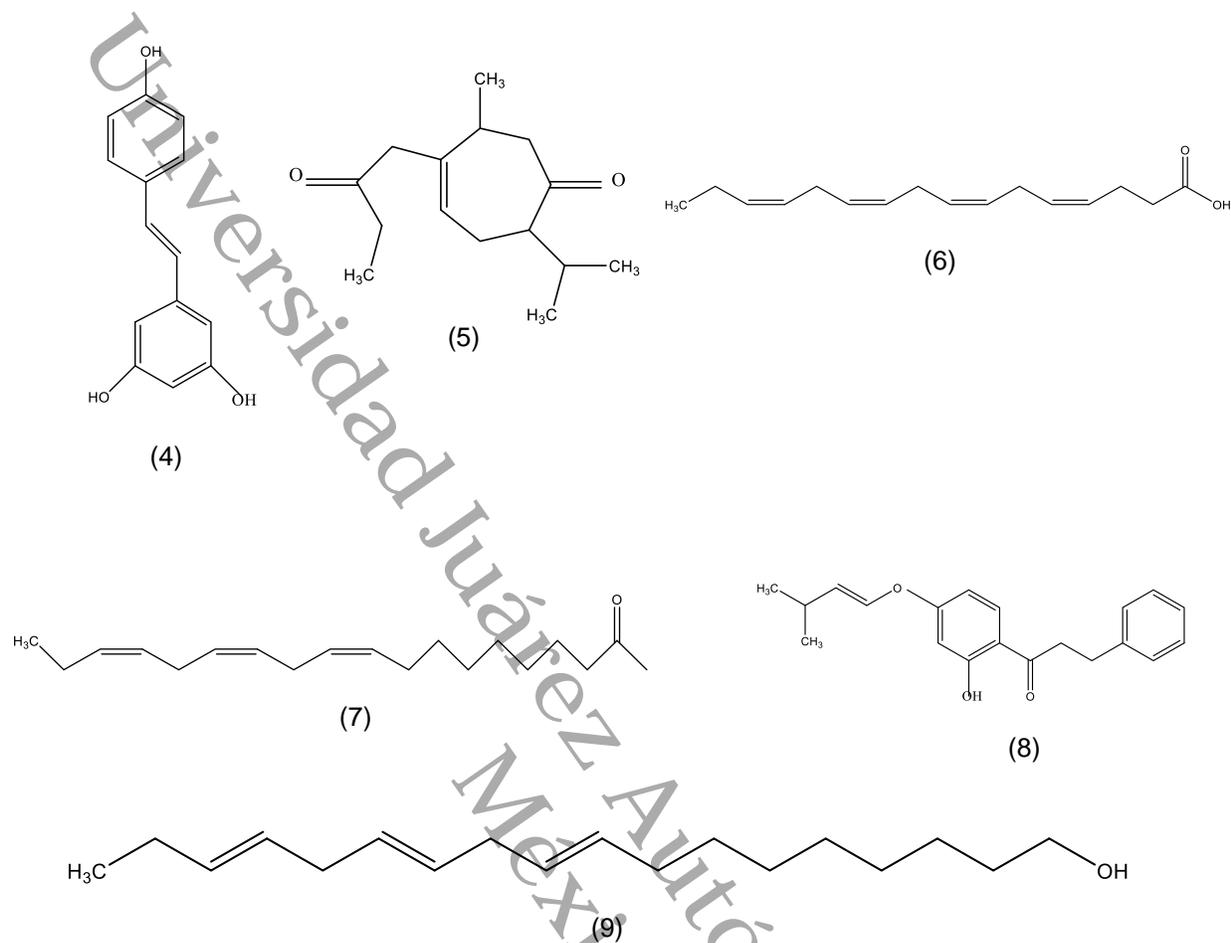


Figura 21. Estructuras químicas de las moléculas fragmentadas seleccionadas.

Nota: De acuerdo a las fragmentaciones de las moléculas seleccionadas, la molécula (1) se fragmentó en los carbonos 2,3, y 4, mientras que la (2) fue fragmentada en los carbonos 1,2,4, y 7. Para la molécula (3) los carbonos fueron 5 y 12. La molécula (4) se fragmentó en el carbono 3. La molécula (5) fue fragmentada en el carbono 2. La molécula (6) se fragmentó en el carbono 5. La molécula (7) fue fragmentada en los carbonos 7,8,9,10,11,13,14 y 15. Mientras que la molécula (8) se fragmentó en el carbono 1, y finalmente la molécula (9) fue fragmentada en los carbonos 5,6,7,8 y 9.

Los resultados obtenidos de la fragmentación de las 9 moléculas se muestran en la tabla 1, donde observamos que cada molécula posee valores diferentes en cuanto a pesos moleculares y tiempo de retención.

Tabla 1. Moléculas seleccionadas obtenidas en el LC-MS.

Numero de pico	TR (min)	Identificación	Formula molecular	Tipo de ion	Experimental (masa-carga) (m/z)	Teórico (masa-carga) (m/z)	(MS/MS) Fragmentos de las moléculas
1	0.728	Ácido pentanoico, 4-amino-, (1)	C ₅ H ₁₁ N O ₂	(M+H) ⁺	118.08645	117.08	101.08, 102.07, 103.06
2	17.591	Ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico	C ₁₂ H ₁₈ O ₃	(M+H) ⁺	209.11761	208.11	111.04,125.06, 153.09, 163.11,191.11
3	19.707	Ácido dodecanodioico	C ₁₂ H ₂₂ O ₄	(M+Na) ⁺	253.14177	230.15	101.06, 214.16
4	20.474	3,4',5-trihidroxitilbena	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	(M+H) ⁺	229.08639	228.08	122.04
5	21.886	Curmadiona	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	(M+H) ⁺	235.16986	234.16	193.12
6	21.896	16:4 (4Z,7Z,10Z,13Z) ácido hexadeca-tetraenoico.	C ₁₆ H ₂₄ O ₂	(M+H) ⁺	249.18553	248.18	149.13, 193.12
7	23.914	9Z,12Z,15Z-octadecatrienal	C ₁₈ H ₃₀ O	(M+NH ₄) ⁺	280.26423	262.23	113.10, 135.07, 153.13, 140.12, 167.14, 193.16, 207.17, 219.21
8	25.238	Dihidrocodeina	C ₂₀ H ₂₂ O ₃	(M+H) ⁺	311.1648	310.16	177.09
9	25.575	9E,12E,15E-octadecatrien-1-ol	C ₁₈ H ₃₂ O	(M+NH ₄) ⁺	282.27987	264.25	125.13, 135.12,149.13, 163.15, 177.16,247.24

11.3 Datos cristalográficos del protein-data bank para p53 (1TUP)

Los datos obtenidos de la estructura cristalográfica de p53 se obtuvieron de la plataforma protein data bank consultando el siguiente enlace: <https://www.rcsb.org/search>.

Se consultó el artículo siguiente, del cual se obtuvo la información necesaria sobre los datos cristalográficos, para abordar a p53 en esta investigación: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8023157/>.

Los datos cristalográficos y la estructura de la proteína p53 fueron consultados en el siguiente enlace: <https://www.rcsb.org/structure/1TUP>. Obteniendo a continuación su estructura en tercera dimensión.

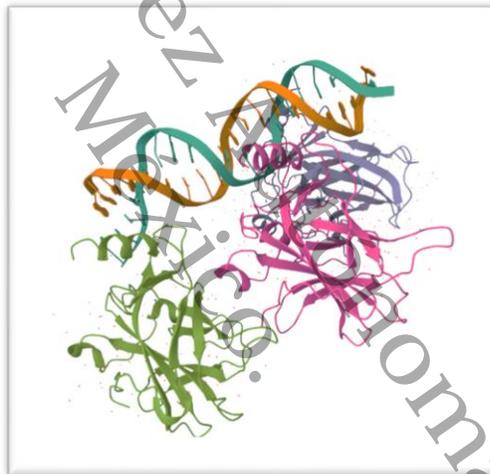


Figura 22. Estructura de p53 (1TUP) en tercera dimensión. Tomado de (Cho et al.,1995; Gorina et al.,1995; Jeffrey et al.,1995).

11.4 Datos cristalográficos del protein-data bank para p21 (4NJD)

Los datos obtenidos de la estructura cristalográfica de p21 se obtuvieron de la misma manera que se obtuvieron para p53 solo que para este factor de transcripción se consultó el enlace siguiente: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31416295/>.

Los datos cristalográficos de p21, abordados en esta investigación fueron consultados en el enlace siguiente: <https://www.rcsb.org/structure/4NJD>, donde observamos al final su estructura en tercera dimensión de la proteína p21 (4NJD).

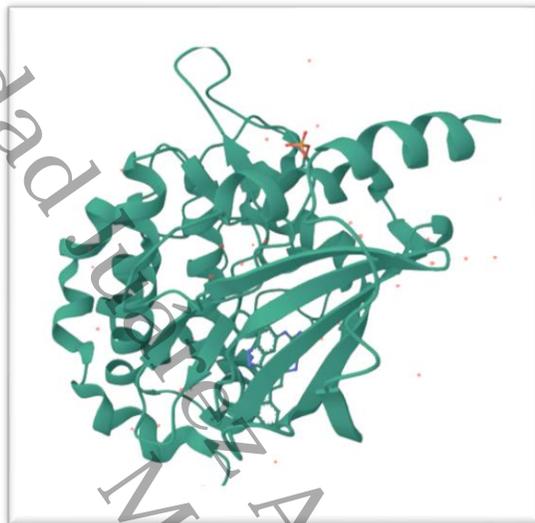


Figura 23. Estructura en tercera dimensión de p21(4NJD). Tomado de (Park et al.,2014)

11.5 Secuencia del genoma humano para 1TUP (p53) y 4NJD (p21).

Para evaluar e identificar, si las moléculas se unían a algún sitio de unión en específico, y poder seleccionar de los *docking* realizados, las más cercanas al sitio de unión del ADN; se descargó en la plataforma NCBI la secuencia humana del homo sapiens para la proteína p53 y para la proteína p21 como se muestra en la figura 23 y para p21 figura 26. Estas secuencias fueron analizadas, basándose en los residuos de aminoácidos presentes, en cada modelo de las moléculas seleccionadas obtenidos del *docking*. Cada color de la secuencia indica los residuos de aminoácidos presentes en el mapa de interacciones obtenidos del *docking*, y basándose en ello y en el número de aminoácidos de la secuencia humana para cada proteína, se definió el sitio de las moléculas en la proteína p53 y/o p21.

A continuación, se presentan algunos ejemplos de lo realizado anteriormente para p53 y para p21.

Secuencia de p53 humana

```

1 meepqsdpsv epplsqetfs dlwkllpenn vlsplpsqam ddlmlspddi
eqwftedpgp
61 deaprmpeaa pryapapaap tpaapapaps wplsssvpsq ktyqgsygfr
lgflhsgtak
121 svctctyspal nkmfcqlakt cpvqlwvdst pppgtrvram aiykqsqhmt
evvrrcphhe
181 rcsdsdglap pqhlirvegn lrveylddrn tfrhsvvvpv eppevgdct
tihynymcns
241 scmggmrrp iltiitleds sgnllgrnsf evrvcacpgr drrteenlr
kkgephhelp
301 pgstkralpn ntssspqpk kpldgeyftl qirgrerfem frelnealel
kdaqagkepg
361 gsrhsshk skkgqstsrh kklmfktegp dsd

```

Figura 24. Secuencia de p53 humana. Tomado de (Rozemuller *et al.*, 2001; Kropveld *et al.*,2001; Kreyveld *et al.*,2001).

<u>Region</u>	<pre> /db_xref="CDD:375947" 109..288 /region name="P53" /note="P53 DNA-binding domain; cd08367" /db_xref="CDD:176262" </pre>
---------------	--

Figura 25. Región o sitio común de la secuencia de p53 con los modelos de los metabolitos seleccionados. Tomado de (Rozemuller *et al.*, 2001; Kropveld *et al.*,2001; Kreyveld *et al.*,2001).

```

ORIGIN
1  meepqsdpsv epplsgetfs dlwkllepenn vlsplpsqam ddlmlspddi
   eqwftedppp
61  deaprmpeaa prvapapaap tpaapapaps wplsssvq klyqgsygfr
   gflhsqtak
121 sytctspal kmfcqlakt cpvqlwvdst pppdtrvga aiykqsqhmt
   evvrrcphhe
181 rcsdsdglap pqhlirvegn lrveylddrn tfrhsvvbpv eppevgsdct
   tihynmcns
241 scmggmnrp iltiilads sgnllgmsf evrvcacpgr drrtseenlr
   kkgephhelp
301 pgstkralpn ntssspqpk kpldgeyftl qirgrerfem frelnealel
   kdaqagkepg
361 gsrhsshk skkgqstsrh kklmfktegp dsd
//

```

Figura 26. Ejemplo de la secuencia humana de p53 para el ácido pentanoico, 4-amino-, (1).

```

ORIGIN
1  mfgkrkkkrve isapsnfehr vhtgfdqheq kftglprqwq slieesarrp kplvdpacit
61  siqpgapkti vrgskgakdg altllidefe nmsvtrsnsl rrdsppppar arqengmpee
121 pattarggpg kagsrgrfag hseagggsgd rrragpekrrp kssregsggp qessrdkrpl
181 sqpdvgtppp aglasgakla agrpfntypr adtdhpsrga qgephdvapn gpsagglaip
241 qsssssrpp trargapspg vlqphasepq lappactpaa pavpgppgpr spqrepqrvs
301 heqfraalql vvdpgdprsy ldnfikigeg stgiviciatv rssgklvavk kmldrkkqrr
361 ellfnevvim rdyqhenvve mynsylvgde lwwmefleg galtdivtht rmneeqlaav
421 clavlqalsv lhaqgvihrd ikdsillth dgrvklsgdfg fcaqyskevp rrkslvgtpy
481 wmapelisrl pygpevdiws lgimviemvd geppyfnepp lkamkmirdn lpprlknlhk
541 vpslkgfld rllvrdpaqr ataaellkhp flakagppas ivplmrqnrtr
//

```

Figura 27. Secuencia de p21 humana. Tomado de Salzberg et al., 2022; Puiu et al., 2022; Sherman et al., 2022).

<u>Region</u>	<u>300..591</u> /region_name="STKc_PAK4" /note="Catalytic domain of the Serine/Threonine Kinase, p21-activated kinase 4; cd06657" <u>/db_xref="CDD:132988"</u>
---------------	---

Figura 28. Región o sitio más común de la secuencia de p21 con los modelos de los metabolitos seleccionados. Tomado de (Salzberg *et al.*, 2022; Puiu *et al.*, 2022; Sherman *et al.*, 2022).

```

ORIGIN
      1 mfgkrkkrve isapshfehr vhtgfdqheq kftglprqwq slieesarrp kplvdpacit
     61 siqpgapkti vrgskgakdg altllldefe nmsvtrsnsl rrdsppppar arqengmpee
    121 pattarggpg kagsrgrfag hseagggsgd rragpekrp kssregsggp qessrdkrpl
    181 sgpdvgtppg aglasgakla agrpfntypr adtdhpsrga qgephdvapn gpsagglai
    241 qsssssrpp trargapspg vlqphasepq lappactpaa pavpgppgpr spqrepqrvs
    301 heqfraalql vvdpgdprsy ldnfilfged stgivciatv rssgklvvk kmdlrlkqrr
    361 ellfnevim rdyqhevve mynsylvgde lwvvmeveg galtdivtth rmneevqiav
    421 clvavlvgalsv lhagqvihrv iksdsivlth dvrvklvgicv fcaqvskevp rrkslvgtpy
    481 wmapelisrl pygpevdviws lqimviemvd gepvpyfnepp lkamknirdn lpprlknlhk
    541 vpslkgfld rllvrvdpagr ataaellkhp flakvcpvas ivvplmrqnrvt r
//

```

Figura 29. Ejemplo de la secuencia humana de p21 para el ácido pentanoico, 4-amino-, (1).

11.6 Determinación de los sitios de unión de la proteína P53 y P21

El siguiente resultado obtenido, una vez conocidas las propiedades de las 9 moléculas se determinó sus sitios de unión en este caso, primero se tomaron los datos cristalográficos de la proteína P53 (1TUP) y de la proteína P21 (4NJD); las cuales fueron sometidas a los programas Maestro software y después al Autodock vina con la intención de obtener a cuantos sitios de unión se pegaban dichas moléculas dentro de las proteínas, para ello se hizo una correlación de 10 modelos en el programas Autodock, para cada molécula, derivando así un total de 90 modelos para la proteína P53 y P21.

Realizado esto se procedió a correr cada una de las moléculas a partir de cada proteína en el programa Autodock vina en el cual se obtuvo resultados precisos para cada una de ellas.

Los modelos de cada proteína, se plasmaron en la tabla 4 y 5 donde se pueden apreciar los que están más cercanos al sitio de unión de cada proteína y la interacción que tienen con cada una de ellas, posteriormente se pudieron observar los compuestos a los cuales su sitio de unión que están cercanos dentro de la secuencia del sitio de unión al ADN de la proteína P53 y para los modelos P21. También se consideraron los modelos de moléculas-proteína que mostraban unión al dominio catalítico de la serina, treonina y quinasa, estos tipos de sitios o uniones se verificaron mediante la secuencia del P53 y P21 humana, buscados en NCBI. De igual manera en la tabla 2 y 3 podemos observar las interacciones que cada compuesto tuvo en cada modelo, podemos ver que no todos los modelos interactuaron con la proteína y que a excepción de algunos no mostraron ningún tipo de interacción con ninguna de las dos proteínas, cabe mencionar que en dichas tablas también se puede observar los residuos de los aminoácidos con los que los modelos se relacionaron para cada proteína.

11.6.1 Factor de transcripción P53 (tabla 2)

En el compuesto 1 de la tabla 2, se encontraron 7 interacciones de las cuales en el modelo 7 y 9 se observan más de 1 aminoácido con el que interactúa el compuesto con la proteína, en cuanto a los compuestos 2 y 4 se aprecia que solo tienen 4 interacciones para dicha proteína, también en los compuestos 3 y 8 se observan interacciones, pero estas solamente con 3 interacciones y el restante de los compuestos no mencionados no obtuvieron ninguna interacción con la proteína.

11.6.2 Factor de transcripción P21 (tabla 3)

Ahora en la tabla 3 que es de P21 se muestra que para el modelo 1 y 4 hay 6 interacciones de las cuales alguno de los modelos posee más de 1 residuo de aminoácido que está interactuando con la proteína; en el compuesto número 2 solo se

obtuvo una interacción. En el modelo 3 se observan 4 interacciones y en los compuestos 8 y 9 se aprecian solo 2 interacciones, y en cuanto a los demás compuestos que no se mencionan es porque no presentan interacción alguna con la proteína.

A continuación, se muestran en las tablas 2 y 3 los tipos de interacciones obtenidos de las moléculas seleccionadas para la proteína P53 y P21.

México.

de Tabasco.

Tabla 2. Residuos de la proteína p53 que interactúan con la molécula de interés seleccionada, en los diferentes modelos de interacción.

Compuesto	Modelo 2	Modelo 3	Modelo 4	Modelo 5	Modelo 6	Modelo 7	Modelo 9
*Ácido pentanoico, 4-amino-, (1)	Ser 99, Pro 98, Arg 267, Arg 158, Met 160, Thr 256 , Glu 258	Arg 202, Pro 219, Tyr 220 , Glu 221, Pro 222, Thr 155, Gly 154, Pro 153, Pro 152	Met 160, Ala 159, Arg 158, Ile 254 , Thr 256, Arg 267, Ser 99	Thr 102, Asn 268, Ser 269 , Phe 270, Leu 111, Asn 131, Phe 113, Tyr 126	Thr 155 , Gly 154, Pro 153, Pro 152, Pro 151, Pro 222, Tyr 220	Phe 113, Leu 111, Arg 110, Phe 109, Gln 104, Asn 268 , Ser 269 , Phe 270, Tyr 126, Asn 131	Tyr 126, Asn 131 , Asn 268 , Ser 269 , Leu 111, Arg 110, Trp 146
	Modelo 2	Modelo 4	Modelo 7	Modelo 9			
* Ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico	Val 172, Arg 174, His 214, Arg 213, Phe 212 , Asp 207, Asp 208	Met 160, Arg 158, Thr 211, Asp 208 , Leu 206, Ser 215, Ile 254 , Thr 256, Glu 258	Val 122, Thr 123, Cys 124, Ser 116 , Leu 114, Thr 140, Pro 142, His 233, Thr 231	Tyr 126, Asn 131, Asn 268, Ser 269 , Leu 111, Arg 110, Trp 146			
	Modelo 2	Modelo 4	Modelo 9				
*Ácido dodecanodioico	Tyr 126, His 115, Phe 113 , Gly 112, Leu 111, Arg 110, Asn 268, Ser 269 , Asn 131	Pro 98, Ser 99 , Arg 267, Thr 211, Asp 208, Leu 206, Thr 256, Arg 158, Met 160	His 115, Phe 113, Gly 112, Leu 111, Arg 110, Tyr 126, Trp 146, Gln 144				
	Modelo 2	Modelo 3	Modelo 4	Modelo 8			
*3,4',5-trihidroxistilbeno (resveratrol)	Ala 138, Met 237, Asn 235, Asp 184, Asp 186, Leu 188, Arg 196, Val 197 , Glu 198	Asn 131, Leu 111, Gly 112, Phe 113 , Leu 114, His 115, Tyr 126, Thr 102, Asn 268, Ser 269	Glu 171, Val 172, Arg 174, Gln 192, Asp 207 , Phe 212, His 214	Pro 128, Tyr 126, His 115, Phe 113, Gly 112, Leu 111, Asn 268 , Ser 269			
	Modelo 5	Modelo 7	Modelo 10				
Curmadiona	Leu 111, Phe 113, His 115, Tyr 126, Pro 128, Asn 131, Asn 268, Ser 269	Val 172, Arg 174, His 214, Phe 212, Arg 209, Asp 207	Arg 110, Leu 111, Gly 112, Phe 113, His 115, Trp 146				

	Modelo 5	Modelo 6	Modelo 7	Modelo 9			
16:4(4Z,7Z,10Z,13Z) ácido hexadeca-tetraenoico.	Trp 146, Tyr 126, Asn 131, Asn 268, Ser 269, Phe 113, Leu 111, Arg 110	Asn 268, Arg 110, Leu 111, Gly 1112, Phe 113, His 115, Tyr 126	Tyr 126, Asn 268, Arg 110, Leu 111, Gly 112, Phe 113, His 115, Trp 146	Leu 252, Ser 269, Phe 270, Glu 271, Asn 131, Leu 130, Lys 164, Thr 102			
	Modelo 1	Modelo 3	Modelo 5	Modelo 6			
9Z,12Z,15Z-octadecatrienal	His 115, Phe 113, Gly 112, Leu 111, Tyr 126, Asn 131, Trp 146	Tyr 126, His 115, Phe 113, Gly 112, Leu 111, Arg 110, Asn 268, Trp 146	His 115, Tyr 126, Phe 113, Gly 112, Leu 111, Arg 110, Trp 146	Ser 269, Leu 111, Gly 112, Phe 113, His 115, Tyr 126, Pro 128, Asn 131			
	Modelo 4	Modelo 8	Modelo 9				
*Dihidrocodeina	Asn 268, Ser 269, Asn 131, Phe 270, Glu 271, Lys 164, Leu 252, Gln 100, Lys 101, Thr 102, Leu 111, Phe 113, Tyr 126	Tyr 126, Pro 128, Asn 131, Leu 252, Thr 102, Asn 268, Ser 269, Leu 111, Phe 113	Arg 174, Val 172, Thr 170, His 214, Phe 212, Thr 211, Gln 192, Arg 209, Asp 208				
	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 7	Modelo 8			
9E,12E,15E-octadecatrien-1-ol	Tyr 126, Asn 268, Arg 110, Leu 111, Gly 112, Phe 113, His 115, Trp 146	His 115, Tyr 126, Asn 131, Phe 113, Gly 112, Leu 111, Arg 110, Ser 269, Asn 268, Trp 146	Glu 271, Val 272, Arg 273, Pro 250, Arg 249, Arg 248, Ser 240, Lys 132, Glu 285	Asp 208, Arg 209, Phe 212, Glu 171, Val 172, Arg 174, Gly 245, Gly 244, Tyr 163, Arg 249			

Nota: En negrita se resaltan los residuos que interactúan con las moléculas, formando puentes de hidrógeno y con un asterisco se identifican las moléculas que están interactuando con p53.

Tabla 3. Residuos que interactúan con la proteína P21 a través de diferentes moléculas.

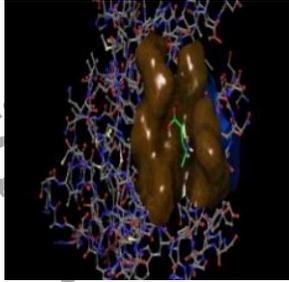
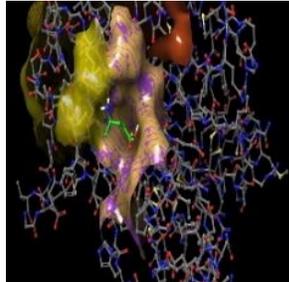
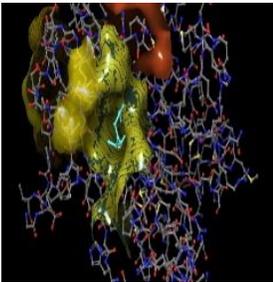
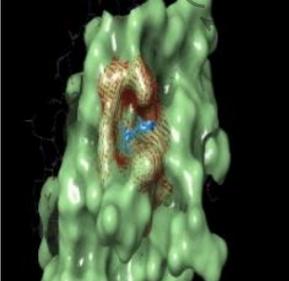
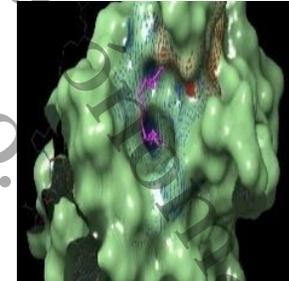
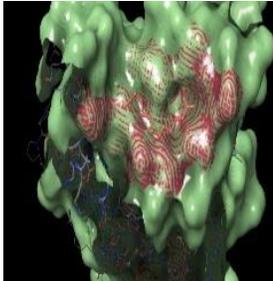
Compuesto	Modelo 3	Modelo 4	Modelo 5	Modelo 7	Modelo 9	Modelo 10
*Ácido pentanoico, 4-amino-, (1)	Lys 350, Asp 458, Gly 460, Phe 461, Asp 440 , Gly 330, Ser 331, Thr 332	Pro 578, Pro 577, Gly 576 , Ala 575, Leu 422, Ala 419, Asn 377, Val 454, Arg 453, Gly 452	Glu 396, Met 395, Ala 348, Val 379, Leu 447, Asp 458 , Ser 457 , Val 335	Ile 327, Leu 398, Phe 397, Ala 348, Val 379, Glu 396, Met 395, Ser 457 , Asp 458, Val 335, Leu 447	Ala 348, Lys 350, Ser 457 , Asp 458, Ile 327, Met 395, Glu 396, Phe 397, Leu 398, Leu 447	Ile 327, Val 379, Ser 457, Asp 458 , Met 395, Val 335, Glu 396, Phe 397, Leu 398, Ala 348, Leu 447
	Modelo 2	Modelo 3				
* Ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico	Ala 348, Met 395, Leu 447, Val 379, Ser 457, Asp 458, Ile 327, Gly 330, Ser 331, Thr 332, Gly 333 , Val 335	Leu 398, Phe 397, Glu 396, Val 335, Gly 333, Thr 332, Ser 331, Gly 330, Asp 458				
	Modelo 2	Modelo 4	Modelo 7	Modelo 10		
*Ácido dodecanodioico	Val 335, Gly 333 , Thr 332, Ser 331, Gly 330, Glu 329, Ile 327, Lys 350, Ala 348, Glu 396, Phe 397, Leu 398, Leu 447, Asp 458	Val 335, Ala 348, Leu 398, Phe 397, Ile 327, Leu 447, Asp 444, Ala 402, Asp 458 , Ser 457	Val 335, Ala 348, Leu 398, Phe 397, Ile 327, Leu 447, Asp 444, Ala 402, Asp 458 , Ser 457	Met 399, Ser 300 , Hid 301, Glu 302, Gln 303, Phe 304, Arg 305, Arg 360		

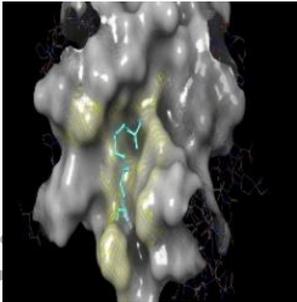
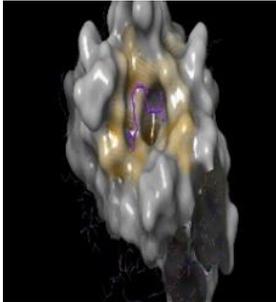
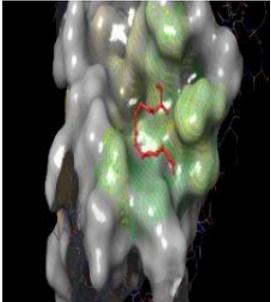
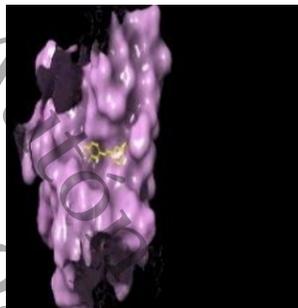
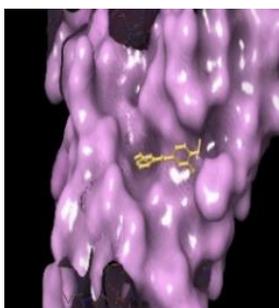
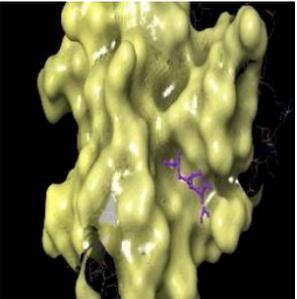
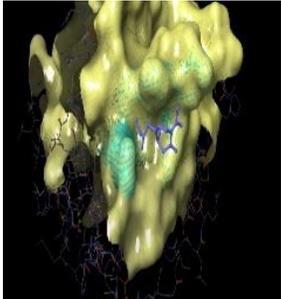
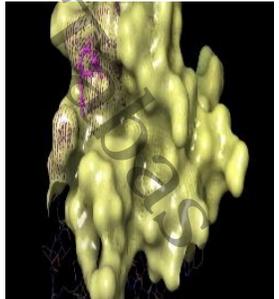
	Modelo 3	Modelo 4	Modelo 5	Modelo 7	Modelo 8	Modelo 10
*3,4',5-Trihidroxistilbeno (Resveratrol)	Leu 447, Met 395, Val 335, Gly 333 , Thr 332, Ser 331, Gly 330, Ile 327, Asp 458	Gly 330, Glu 329, Asp 458, Ile 327, Leu 447, Leu 398, Phe 397, Glu 396 , Met 395, Val 379, Ala 348, Val 335,	Val 335, Asp 458, Gly 330, Glu 329 , Gly 328, Ile 327, Leu 447, Met 395, Glu 396, Leu 398, Ala 348, Val 379,	Gly 330, Glu 329, Ile 327, Leu 447, Leu 398, Phe 397, Glu 396 , Met 395, Val 379, Ala 348.	Leu 447, Val 335, Ile 334, Gly 333 , Thr 332, Ser 331, Gly 330, Ile 327, Asp 458	Val 347, Leu 346, Lys 345, Val 340, Tyr 320, Val 394, Tyr 385, Asn 383 , Tyr 382,
	Modelo 1	Modelo 5	Modelo 10			
Curmadiona	Met 395, Glu 396, Phe 397, Leu 398, Leu 447, Ile 327, Ala 402, Asp 458, Ser 457, Val 335, Lys 350, Ala 348, Val 379	Val 335, Glu 329, Gly 328, Ile 327, Leu 447, Ala 348, Ser 457, Asp 458	Gly 328, Val 335, Ile 327, Leu 398, Gly 401, Ala 402, Leu 447, Asp 444, Asp 458			
	Modelo 2	Modelo 3	Modelo 6			
16:4(4Z,7Z,10Z,13Z) ácido hexadeca-tetraenoico.	Val 335, Ile 327, Leu 447, Gly 401, Leu 398, Phe 397, Ala 348, Ser 457, Asp 458	Thr 332, Val 335, Leu 398, Phe 397, Leu 447, Ile 327, Asp 444, Asp 458, Asp 440	Gly 328, Ile 327, Glu 396, Phe 397, Leu 398, Gly 401, Ala 402, Asp 458, Leu 447, Asp 444, Val 335, Ala 348			
	Modelo 1	Modelo 4	Modelo 8			
9Z,12Z,15Z-Octadecatrienal	Ile 327, Leu 447, Asp 444, Asp 458, Ser 457, Val 335, Ala 348, Leu 398, Phe 397, Ala 402	Ile 327, Glu 329, Gly 330, Thr 332, Val 335, Gly 460, Phe 459, Asp 458, Ser 457, Leu 447, Leu 398, Phe 397, Glu 396,	Ile 327, Leu 447, Asp 444, Val 335, Ala 348, Glu 396, Phe 397, Leu 398, Gly 401, Ala 402, Thr 404, Asp 405			

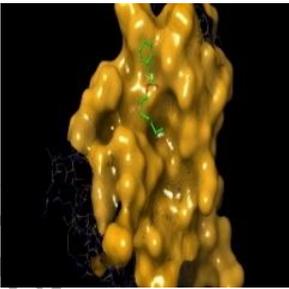
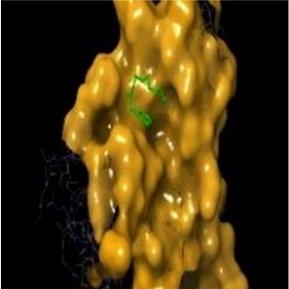
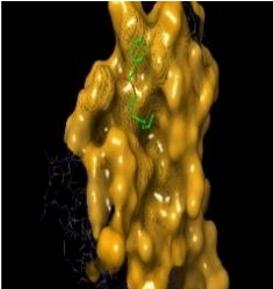
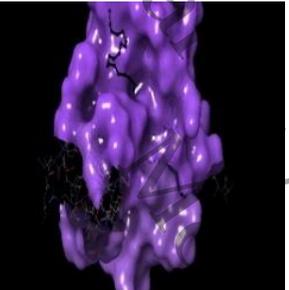
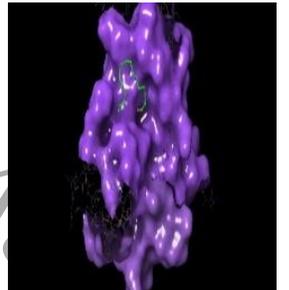
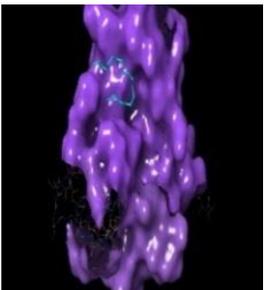
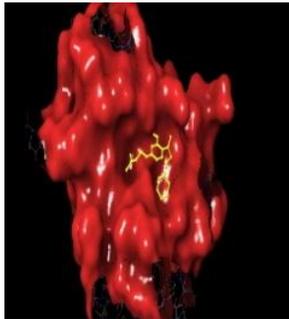
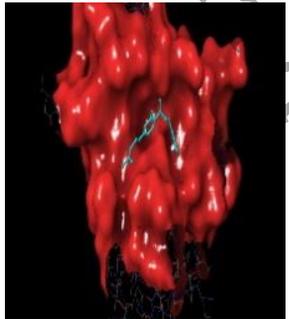
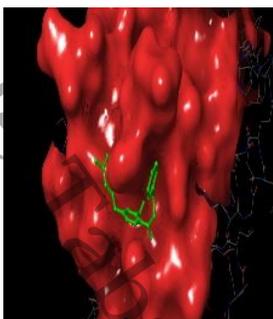
		Met, 395, Ala 348, Lys 350				
	Modelo 5	Modelo 7				
*Dihidrocordoina	Ser 457, Asp 458, Ile 327, Val 335, Met 395, Lys 350, Ala 348, Val 379, Leu 447, Asp 444	Val 335, Thr 332, Ser 331, Gly 330, Ile 327, Leu 447, Ala 348, Lys 350, Ser 457, Asp 458 , Gly 460, Phe 461, Asp 440, Phe 397, Leu 398				
	Modelo 1	Modelo 9				
*9E,12E,15E- Octadecatrien-1-ol	Ser 457 , Asp 458, Gly 460, Phe 461, Val 335, Thr 332, Asp 440, Lys 350, Asp 444, Leu 447, Ile 327, Ala 402, Met 395	Ala 348, Met 395, Gly 328, Ile 327, Asp 444, Leu 447, Val 335, Asp 458 , Ser 457, Ala 402, Gly 401				

Nota: En negrita se resaltan los residuos que interactúan con las moléculas, formando puentes de hidrógeno y con un asterisco se identifican las moléculas que están interactuando con p21.

Tabla 4. Modelos de interacción con los residuos específicos de P53

Compuesto	Modelo 3	Modelo 7	Modelo 9
<p>Ácido pentanoico, 4-amino</p>			
<p>Interacción</p>	<p>El tipo de interacción de cada una fueron puentes de hidrógeno, y las que presentaban más de dos interacciones fueron el modelo 3 con la Tyr 220, el modelo 7 con el Asn 268 y la Ser 269 y por último el modelo 9 con el la Asn 131, la Asn 268 y la Ser 269. Los demás modelos como el modelo 2 que interactuó con el Thr 256, el 4 con la Ile 254, el 5, con la Ser 269 y el 6 con el Thr 155 solo estaban interactuando con un solo aminoácido. Unidos al sitio de unión del ADN.</p>		
	<p>Modelo 2</p>	<p>Modelo 4</p>	<p>Modelo 7</p>
<p>Ácido (5<i>E</i>,8<i>E</i>,10<i>Z</i>)-12-oxododecatrienóico</p>			
<p>Interacción</p>	<p>Las interacciones fueron de tipo puente de hidrógeno y el aminoácido Phe 212 interactuó en el modelo 2, en el 4 fue Asp 208, en el 7 Ser 116 y en el 9 Ser 269. Unidas al sitio de unión del ADN.</p>		

	Modelo 2	Modelo 4	Modelo 9
Ácido dodecanodioico			
Interacción	Interacción de tipo puente de hidrógeno; en el modelo 2, la Phe 113 y Ser 269 son las que interactúan, en el modelo 4 Ser 99 y en el 9 Gln 144. Unidos los 3 modelos al sitio del ADN.		
	Modelo 2	Modelo 3	Modelo 8
3,4',5-Trihidroxistilbeno (Resveratrol)			
Interacción	Interacciones de tipo puente de hidrógeno y los aminoácidos que interactúan son en el modelo 2 la Val 197, en el 3 Phe 113, en el 4 Asp 207, en el 8 Asn 268. Todas con unión al ADN.		
	Modelo 5	Modelo 7	Modelo 10
Curmadiona			

Interacción	En este compuesto no se encontraron interacciones.		
	Modelo 5	Modelo 6	Modelo 7
16:4(4Z,7Z,10Z,13Z) ácido hexadecatetraenoico.			
Interacción	En este compuesto no se encontraron interacciones.		
	Modelo 1	Modelo 3	Modelo 5
9Z,12Z,15Z-Octadecatrienal			
Interacción	En este compuesto no se encontraron interacciones.		
	Modelo 4	Modelo 8	Modelo 9
Dihidrocodeína			
Interacción	Interacciones de tipo puentes de hidrógeno. En el modelo 4 el aminoácido que interactúa es Thr 102, en el 8 Ser 269 y en el 9 Phe 212. Unidas al sitio del AND.		

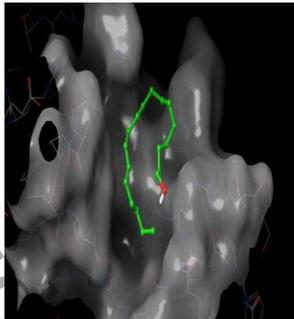
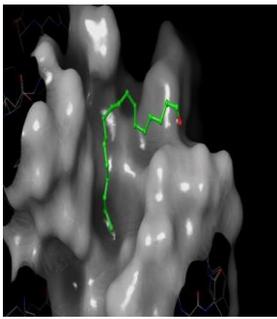
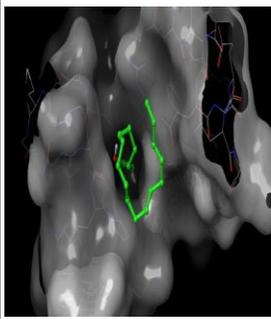
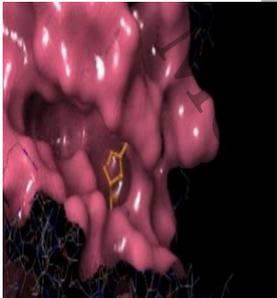
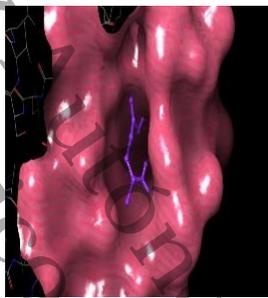
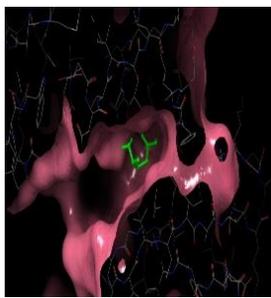
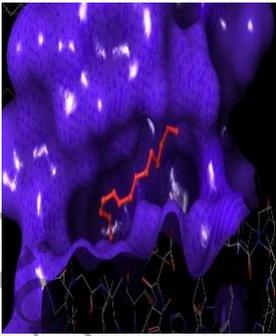
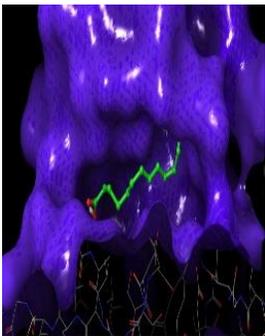
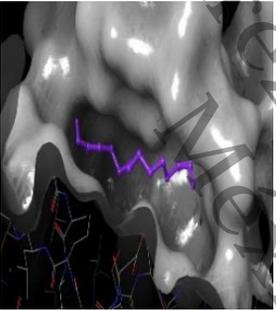
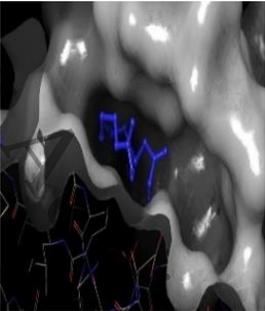
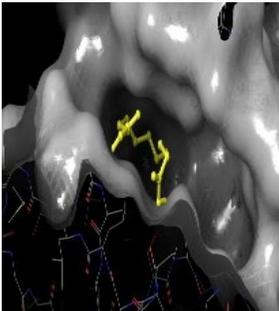
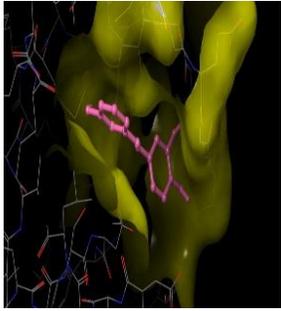
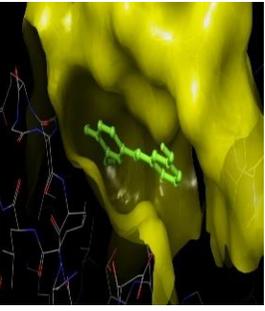
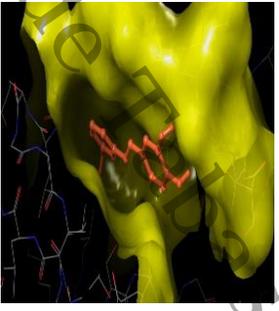
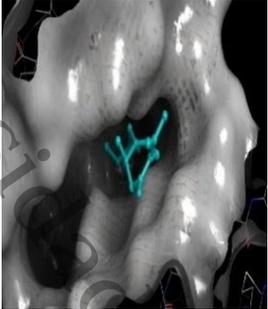
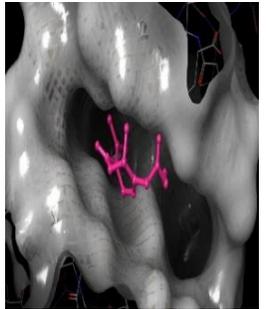
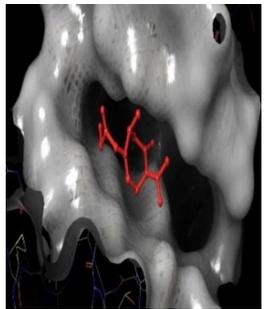
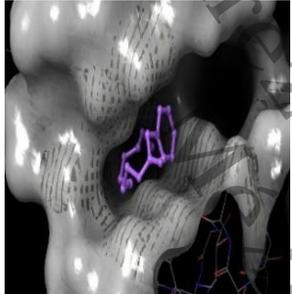
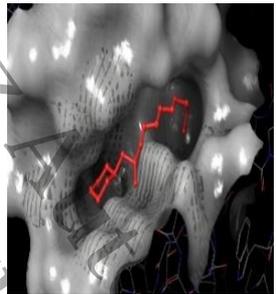
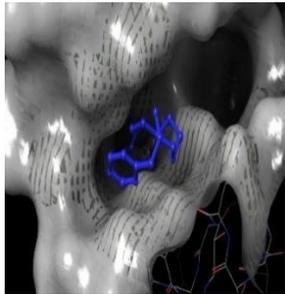
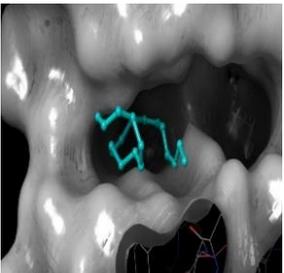
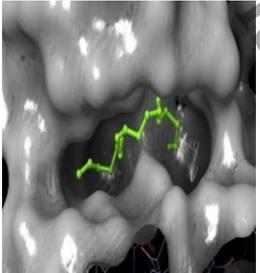
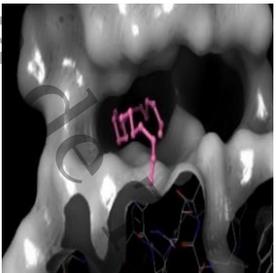
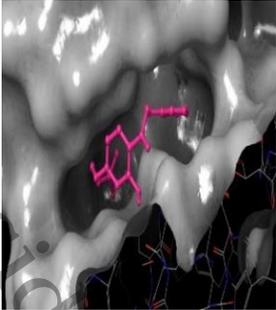
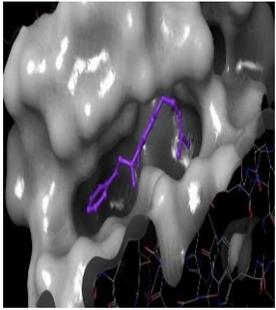
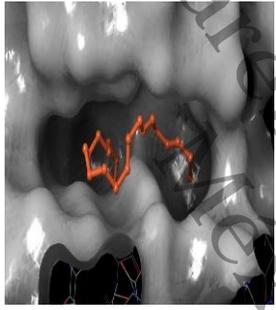
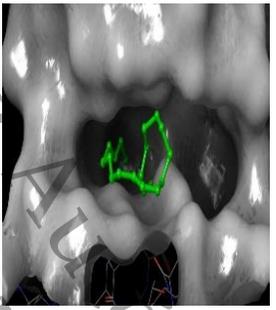
	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 7
9E,12E,15E-Octadecatrien-1-ol			
Interacción	En este compuesto no se encontraron interacciones.		

Tabla 5. Modelos que interactúan con P21.

Compuesto	Modelo 3	Modelo 4	Modelo 5
Ácido pentanoico, 4-amino			
Interacción	Interacciones de tipo puentes de hidrógeno, en el modelo 3 el Asp 440 fue el que interactuó con el compuesto, en el modelo 4 fue Gly 576, en el 5 Asp 458 y Ser 457, en el 7 fue la Ser 457, en el 9 la Ser 457 y por último en el modelo 10 el Asp 458.		

	Modelo 2	Modelo 3	
Ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico			
Interacción	Las interacciones en este compuesto son de tipo puente de hidrógeno, en el modelo 2 interactúa Gly 333, mientras que en el modelo 3 no hubo ninguna interacción.		
	Modelo 2	Modelo 4	Modelo 7
Ácido dodecanodioico			
Interacción	Las interacciones de este compuesto son de tipo puente de hidrógeno, en el modelo 2 interactúan los aminoácidos, Gly 33, en el modelo 4 Asp 458, en el modelo 7 Asp 458 y en el modelo 10 Ser 300. Unidos al dominio catalítico de la serina, treonina y quinasa.		
	Modelo 3	Modelo 4	Modelo 5
3,4',5-Trihidroxistilbeno (Resveratrol)			
Interacción	Las interacciones de este compuesto son de tipo puente de hidrógeno, en el modelo 3 interactúan los aminoácidos, Gly 333, en el modelo 4 Glu 396, en el modelo 5 Glu 329, en el modelo 7 Glu 396, en el modelo 8 Gly		

	333 y en el modelo 10 Asn 383. Unidos al sitio de union catalítico de la serina treonina y quinasa.		
	Modelo 1	Modelo 5	Modelo 10
Curmadiona			
Interacción	En este compuesto no se encontraron interacciones.		
	Modelo 2	Modelo 3	Modelo 6
16:4(4Z,7Z,10Z,13Z) ácido hexadeca-tetraenoico.			
Interacción	En este compuesto no se encontraron interacciones.		
	Modelo 1	Modelo 4	Modelo 8
9Z,12Z,15Z-Octadecatrienal			
Interacción	En este compuesto no se encontraron interacciones.		

	Modelo 5	Modelo 7	
Dihidrocodeína			
Interacción	Interacciones de tipo puente de hidrógeno, los aminoácidos que interactúan son: en el modelo 5 el Asp 444 y en el 7 el Asp 458. unidos al dominio catalítico de la serina, treonina y quinasa.		
	Modelo 1	Modelo 9	
9E,12E,15E-Octadecatrien-1-ol			
Interacción	Las interacciones en este compuesto son de tipo puente de hidrógeno, en el modelo 1 interactúa Ser 457 y en el modelo 9 Asp 458. Unidos al dominio catalítico de la serina, treonina y quinasa.		

11.7 Análisis de los modelos que interactúan con la proteína

Para conocer más a detalle las interacciones de las proteínas p53 y p21 con las moléculas seleccionadas, se realizó un análisis con imágenes detalladas de los modelos obtenidos, las cuales se dividieron en 3 partes, para poder determinar el sitio de unión más probable.

En la primera imagen están incluidos todos los modelos de la interacción de las moléculas de interés con la proteína o factor de transcripción; cabe mencionar que se eligieron los que tienen una interacción con la proteína. En la segunda imagen se muestran los modelos (de las moléculas con diferentes colores), que están realizando una interacción más estrecha con el sitio de unión en p53 y P21 (mostrado más abajo). al final de las imágenes se muestran los modelos en los cuales se observa el sitio de unión más recurrente o sea el sitio en el que más se unen los modelos (de las moléculas).

11.7.1 Modelos de las interacciones de las moléculas obtenidas de *Manilkara zapota* con la proteína P53 en el sitio de unión al ADN.

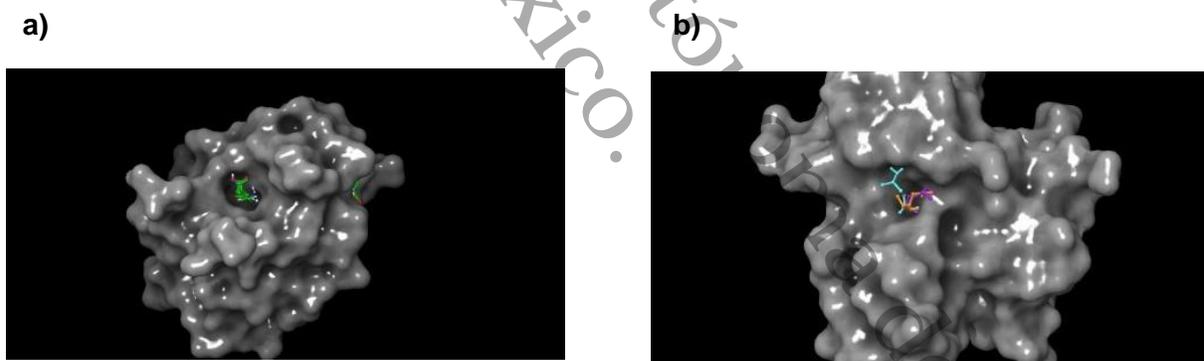


Figura 30. Modelo del ácido pentanoico, 4-amino-, (1). a) En esta figura se muestra p53 unida al ácido pentanoico, 4-amino-, (1) en un solo sitio de p53 visto en 3 modelos diferentes 2,4 y 8 unidos. b) En esta figura se muestra el modelo en el que p53 está interactuando en su sitio de unión al ADN estrechamente con al ácido pentanoico, 4-amino-, (1) en tres ángulos diferentes color azul, naranja y morado (modelos 5,7 y 9).

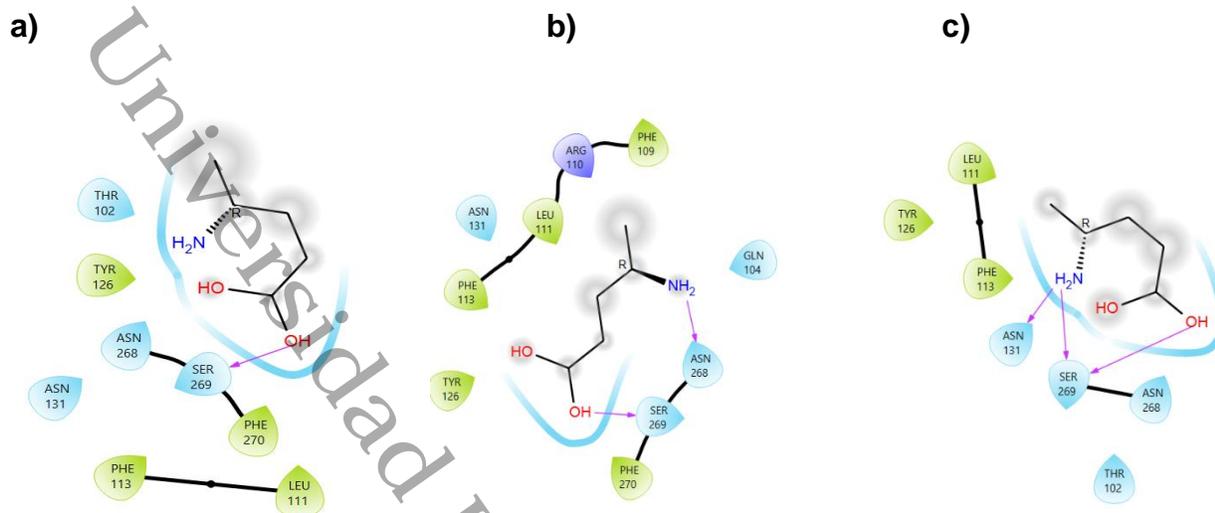


Figura 31. Mapa de interacciones de los modelos 5, 7 y 9, seleccionados de la molécula ácido pentanoico, 4-amino-, (1), con p53.

a) Se muestra la interacción del residuo serina (Ser) 269 con un OH de la molécula o modelo 5. b) interacción de la serina (Ser) 269 con un residuo OH y de la asparagina (Asn) 268 con un grupo amino del modelo 7. c) interacción de la asparagina (Asn) 131 y la serina (Ser) 269 con una amina y la serina 269 con un OH del modelo 9.

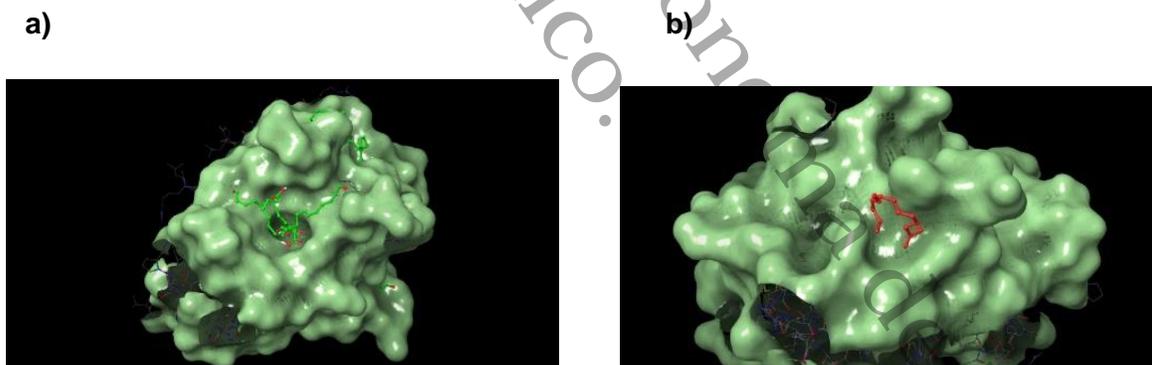


Figura 32. a) Interacción de p53 con el ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico con los modelos 4,6 y 10 y b) Se muestra la interacción de p53 en el sitio de unión al ADN con el ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico en color rojo en una relación más estrecha. (modelo 2).

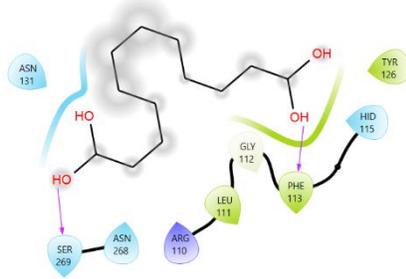


Figura 33. Mapa de interacción de los residuos presentes en el sitio de unión al ADN de la proteína p53 con la molécula de ácido (5*E*,8*E*,10*Z*)-12-oxododecatrienóico (modelo 2). En la figura se observa la interacción de la serina 269 (SER) con un OH de la molécula, y de la fenilalanina 113 (PHE) con un OH de la molécula de ácido 12-oxo-5*E*,8*E*,10*Z*-dodecatrienóico (modelo 2).



Figura 34. Interacción de p53 con el ácido dodecanodioico a) Se muestra la interacción del sitio de unión de p53 con el ácido dodecanodioico en los modelos 2 y 9. b) Se muestra la interacción del ácido dodecanodioico en dos ángulos distintos uno en color azul (modelo 2) y en color rojo (modelo 9).

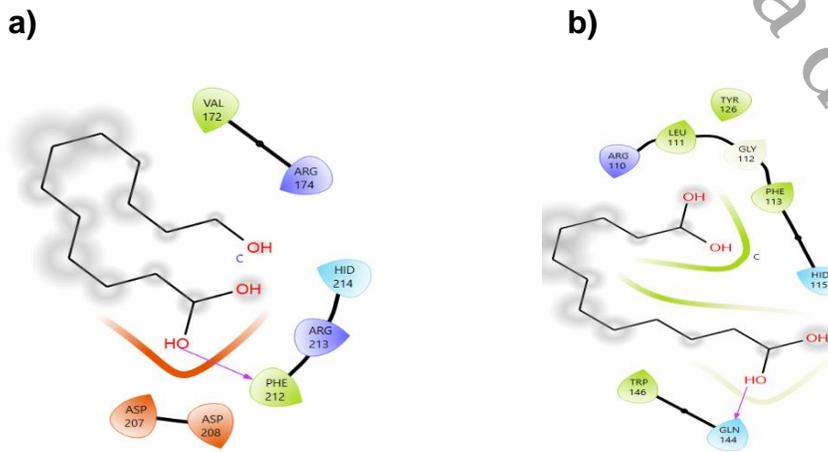
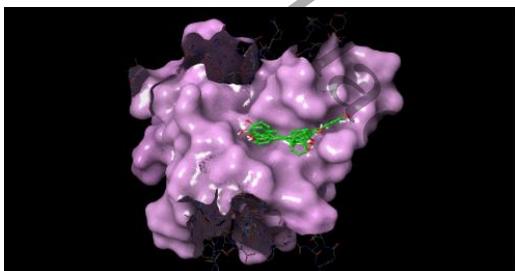


Figura 35. Mapa de interacción de p53 con los modelos 2 y 9. En a) Se muestra la interacción del residuo de fenilalanina 212 (PHE) del sitio de unión al ADN de p53 con un grupo OH del ácido dodecanodioico (modelo 2). b) Se muestra la interacción del residuo de glutamina 144 (GLN) con un OH del ácido dodecanodioico (modelo 9).

a)



b)

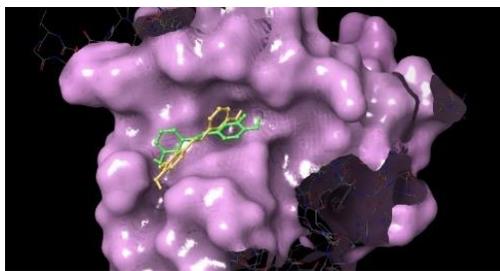
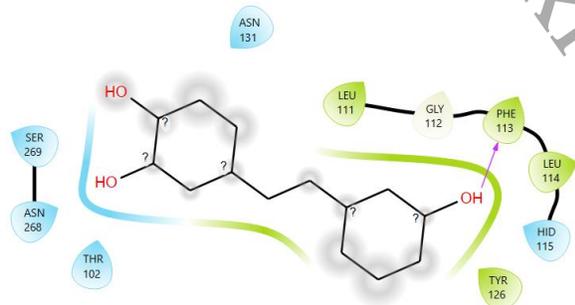


Figura 36. Interacción de p53 con los modelos 3 y 8 del 3,4',5-trihidroxistilbeno. En a) Se muestra la inserción de los modelos 1,3,7 y 8 del 3,4',5-Trihidroxistilbeno en p53. b) Muestra la interacción estrecha de los modelos 3 (verde), y 8 (amarillo claro) del 3,4',5-trihidroxistilbeno en el pocket (sitio de unión al ADN) de la proteína p53.

a)



b)

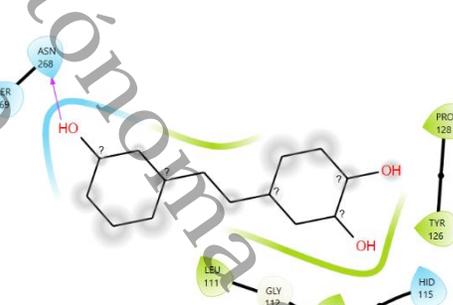
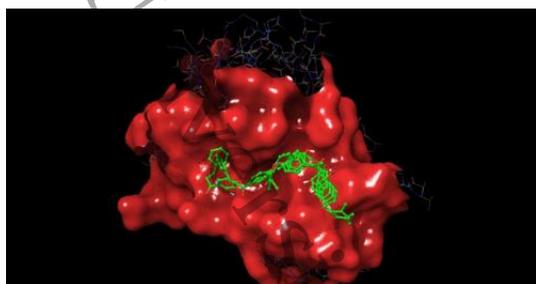


Figura 37. Mapa de interacción de los modelos 3 y 8 de la molécula 3,4',5-trihidroxistilbeno en el pocket (sitio de unión) del ADN de p53. a) Muestra la interacción del residuo de fenilalanina 113 (PHE) con un OH de la molécula (modelo 3). b) Se muestra el residuo de asparagina 268 (ASN) que interactúa con un OH de la molécula (modelo 8).

a)



b)

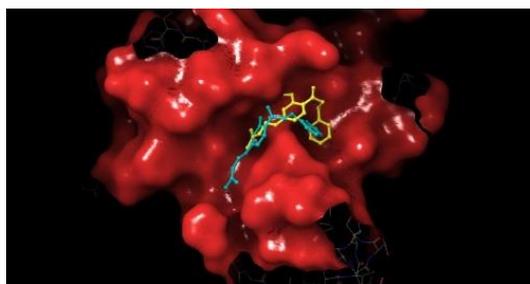
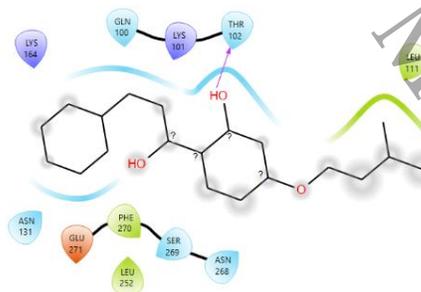


Figura 38. Interacciones de la proteína p53 con la molécula de dihidrocodeína. a) Se muestra a la proteína p53 interaccionando con los modelos 2,4,5,7,8 y 10 de la dihidrocodeína. b) Muestra la interacción estrecha de p53 en el sitio de unión al ADN con la dihidrocodeína en los modelos 4 (color azul) y 8 (color amarillo claro).

a)



b)

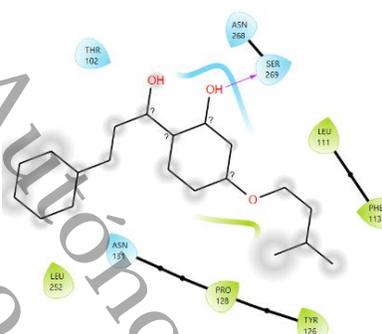


Figura 39. Mapa de interacción del sitio de unión (pocket) al ADN con los modelos 4 y 8 de la molécula Dihidrocodeína.

Figura a) se muestra la interacción de la treonina 102 (THR) del sitio de unión al ADN con un OH de la molécula de dihidrocodeína (modelo 4). b) se muestra la interacción del residuo serina 269 (SER) con un OH de la molécula de dihidrocodeína (modelo 8).

11.7.2 Otros sitios de unión de la proteína P53

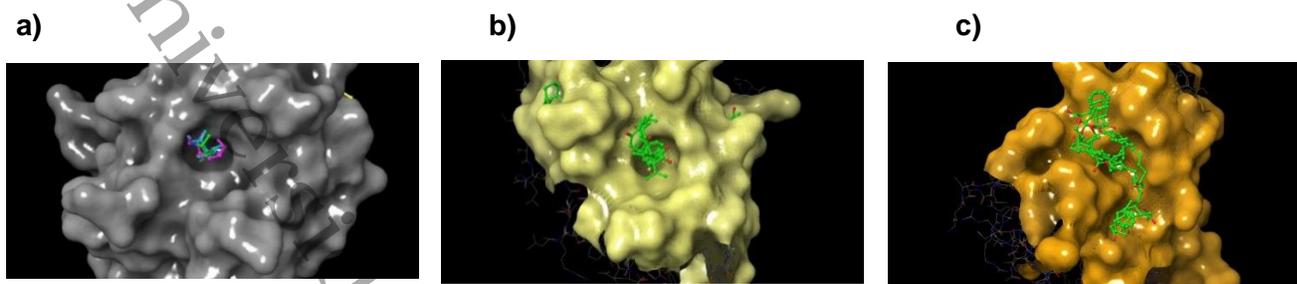


Figura 40. Otros sitios de unión de la proteína P53. En estas imágenes observamos los diferentes sitios de unión a los que los modelos se unen a la proteína en este caso se colocaron los que son más frecuentes y donde hay más modelos de cada compuesto unido en un solo sitio en específico. En la figura a) Se observa el del ácido pentanoico, 4-amino-, (1), en la figura b) Se observa el de la curmadiona y en la figura c) La interacción con el 16:4(4Z,7Z,10Z,13Z) ácido hexadeca-tetraenoico.

* P21.

11.7.3 Modelos e interacciones de la proteína P21

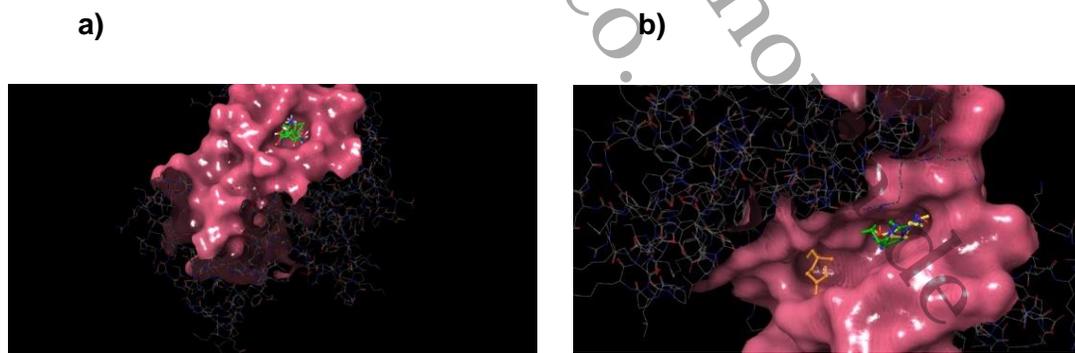


Figura 41. Interacción de p21 con el ácido pentanoico, 4-amino-, (1). a) Se muestra la interacción de P21 con el ácido pentanoico, 4-amino-, (1), interaccionando en los modelos 2,4,6, y 8. b) Se muestra la interacción de p21 con el ácido pentanoico, 4-amino-, (1), en los modelos 3,4,5,7,9 y 10 en colores naranja, azul, rojo, amarillo y verde respectivamente.

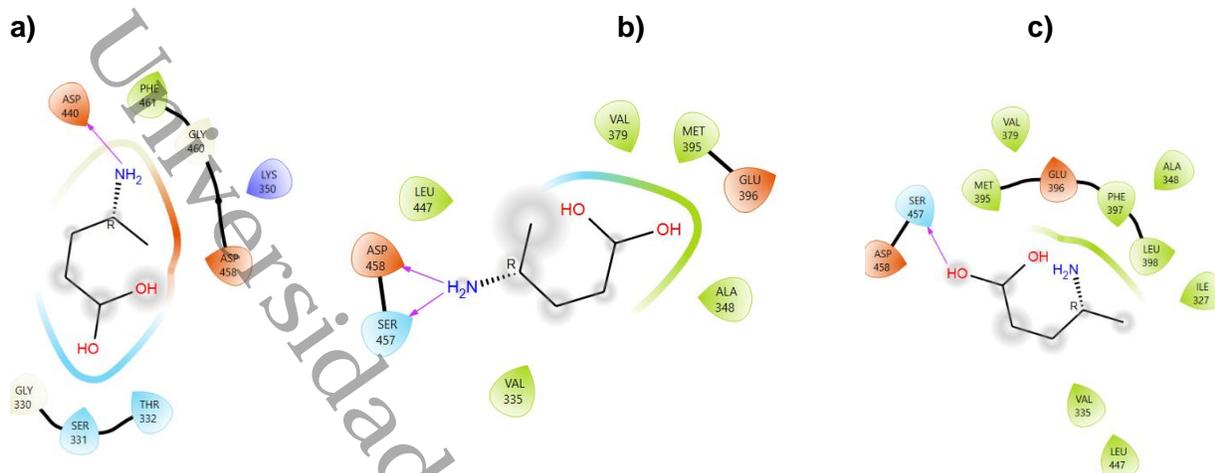
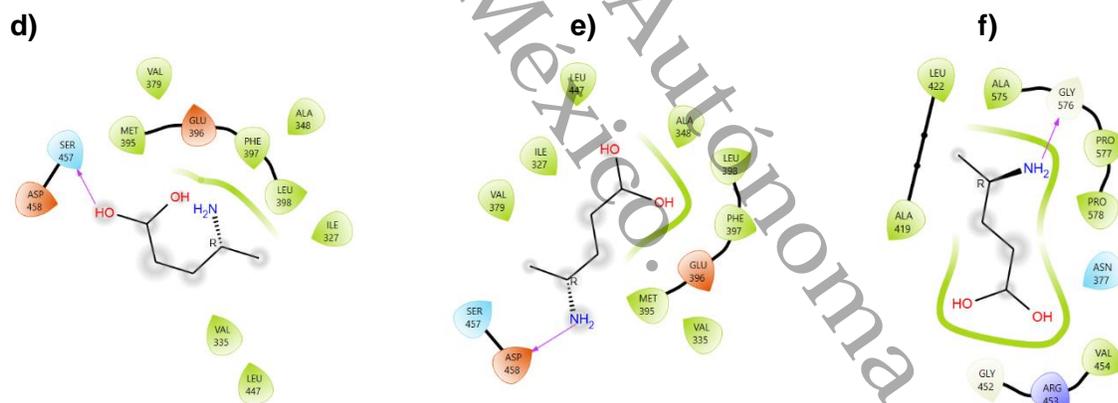


Figura 42. Mapa de interacción de P21 con la molécula de ácido pentanoico, 4-amino-, (1) en los modelos 3, 5 y 7, y con los modelos 4, 9 y 10.

a) Se muestra la interacción de un grupo amino de la proteína p21 con el aspartato (ASP) 440 de la molécula de interés. b) Se muestra la interacción del aspartato (ASP) 458 y de la serina (SER) 457 de la proteína p21 con la molécula de interés. c) Muestra la interacción de la serina (SER) 457 con un grupo OH de la molécula de interés.



d) Muestra la interacción de la serina (SER) 457 de p21 con un grupo OH, del ácido pentanoico, 4-amino-, (1), e) Interacción del aspartato (ASP) 458 de la proteína p21 con un grupo amino del ácido mencionado anteriormente f) Interacción de la glicina (GLY) 576 de la proteína p21 con un grupo amino, igualmente del ácido mencionado anteriormente.

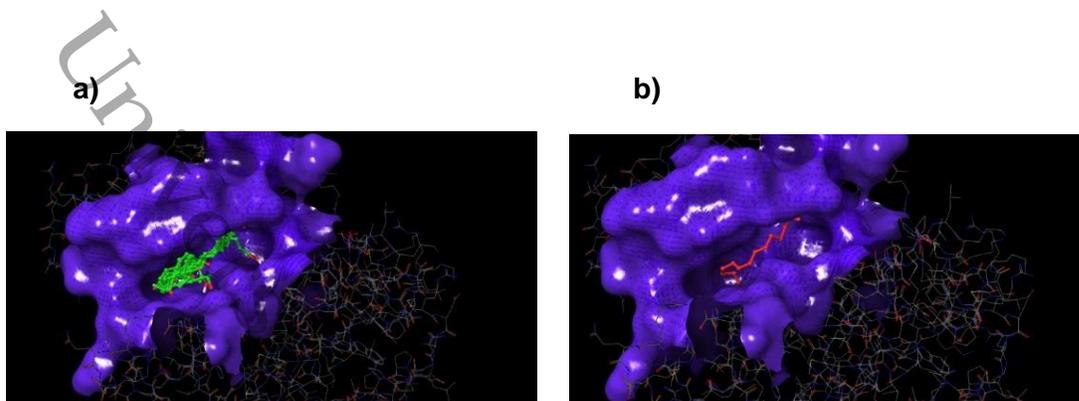


Figura 43. Interacción de la proteína p21 con el ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico. a) Interacción de la proteína p21 (azul), en el sitio catalítico de unión de la serina, treonina, quinasa con el ácido 12-oxo-5E,8E,10Z-dodecatrienóico en los modelos 1,2,3,4,5,6,7,8,9 y 10. b) Se muestra la interacción del ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico en el sitio catalítico de unión de la serina, treonina, quinasa en p21 (modelo 2 en rojo).

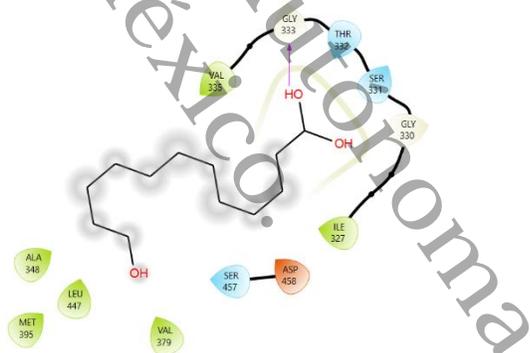


Figura 44. Mapa de interacción de p21 con la molécula de ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico (modelo 2).

Interacción de la glicina (GLY) 333 del sitio catalítico de unión de p21 con una molécula de OH del ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico (modelo 2).

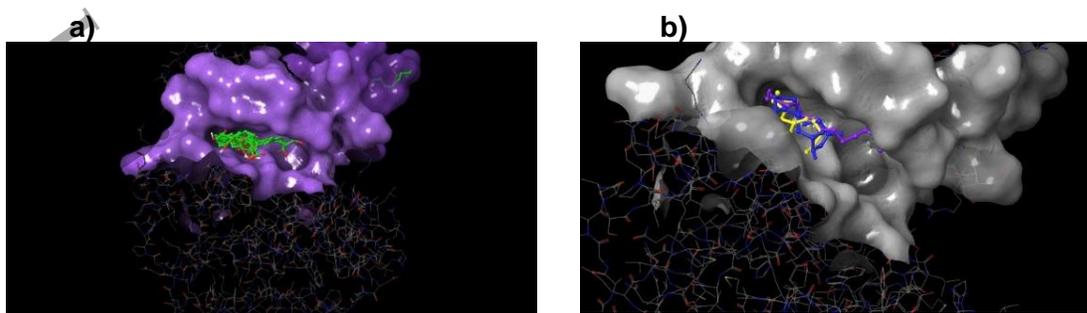


Figura 45. Interacción de la proteína p21 en el sitio catalítico de unión con el ácido dodecanodioico. a) Muestra la interacción proteína p21 con el ácido dodecanodioico con los modelos 1,2,3,4,5,6,7,8 y 9. b) Muestra la interacción de los modelos 2,4, y 7 en colores azul, morado, amarillo respectivamente.

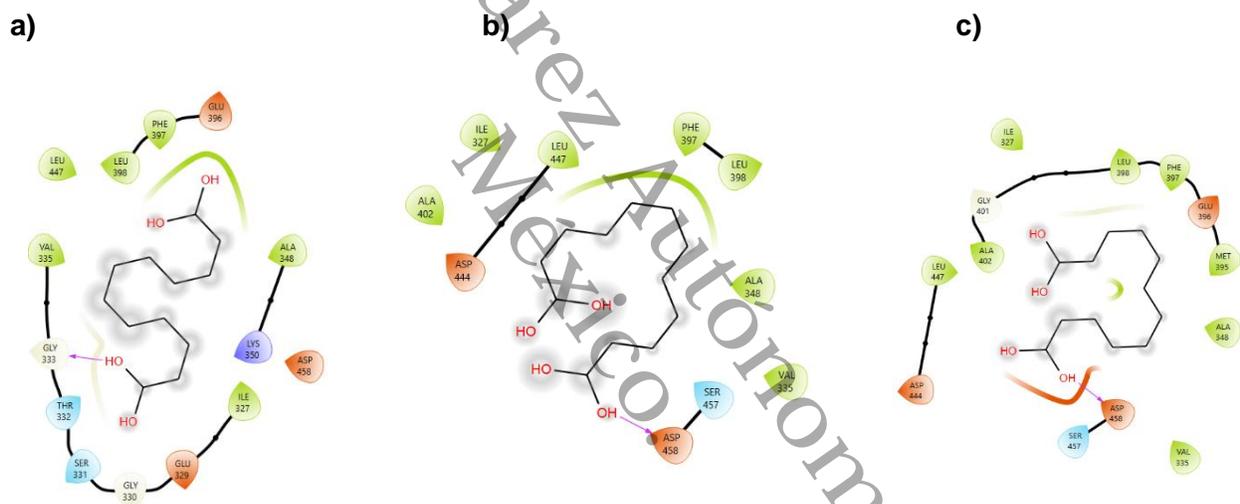


Figura 46. Mapa de interacción de p21 con la molécula de ácido dodecanodioico en los modelos 2,4 y 7. a) Interacción de la glicina (GLY) 333 del sitio catalítico de interacción de p21, con un residuo OH del ácido dodecanodioico. b) interacción del aspartato (ASP) 458 de p21 con un residuo OH del ácido mencionado anteriormente c) Se representa la misma interacción del inciso b en un nicho diferente de interacción dentro del mismo sitio catalítico.

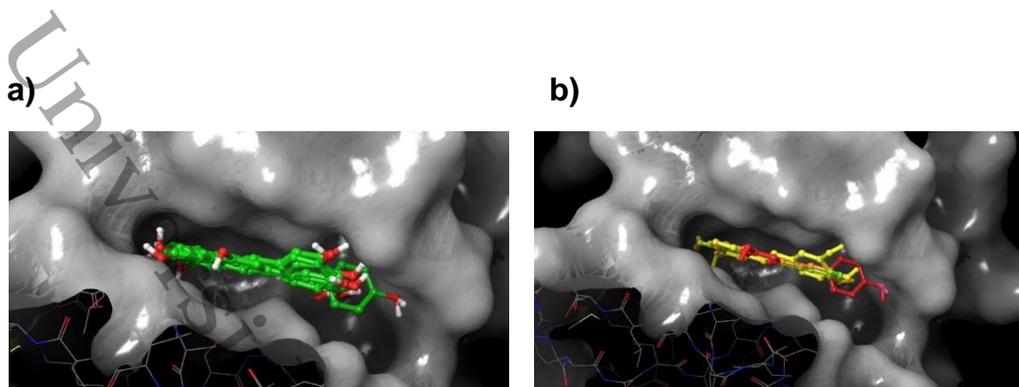


Figura 47. Interacción en el sitio catalítico de p21 con el 3,4',5-trihidroxistilbeno (resveratrol). a) Se muestran los modelos 3,4,5,7,8 y 10. b) Interacción del sitio catalítico de p21 con el 3,4',5-trihidroxistilbeno (resveratrol), en los modelos 3,4,5,7,8 y 10.

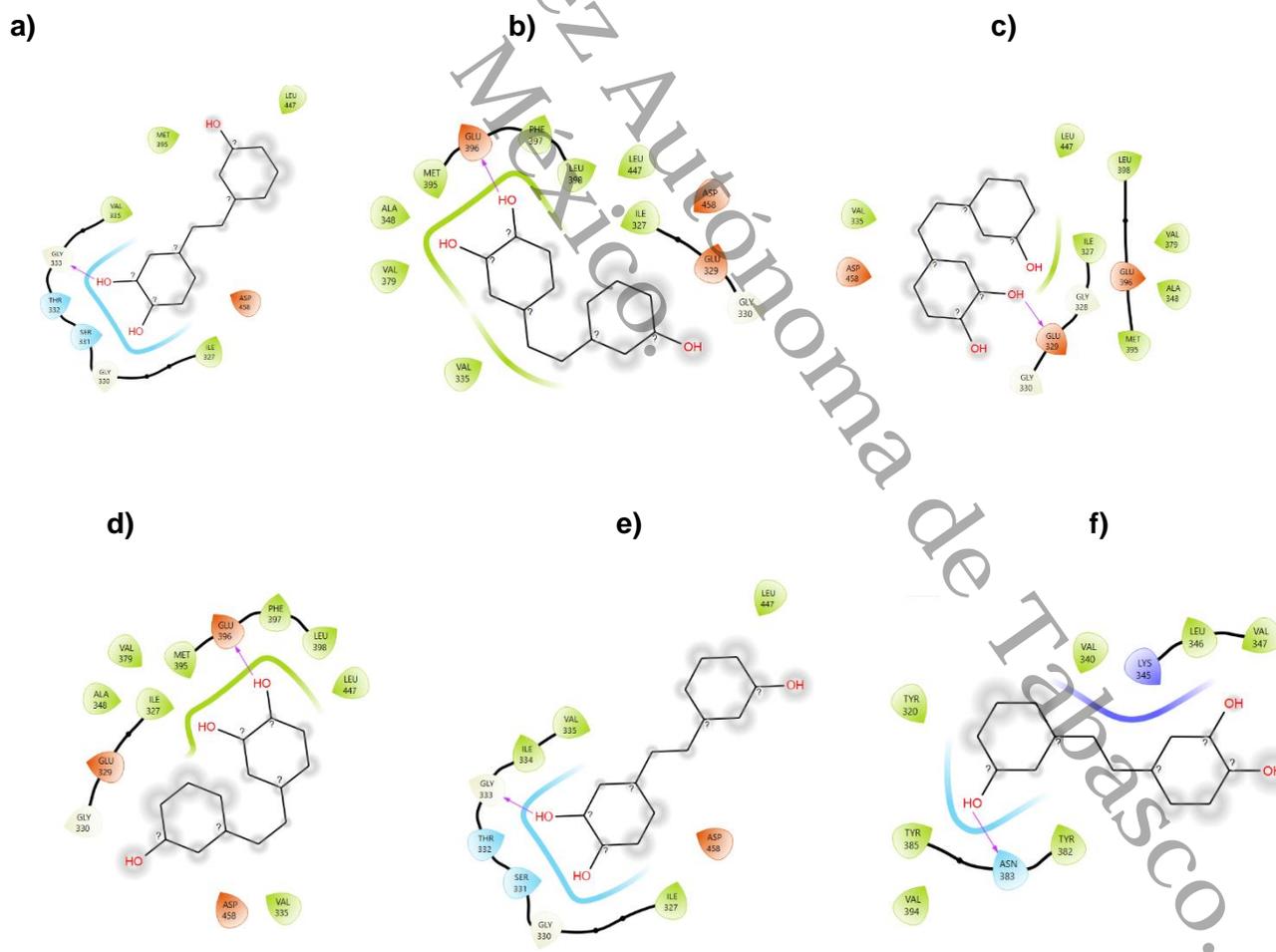


Figura 48. Mapa de interacción de los residuos del sitio catalítico de p21 con la molécula 3,4',5-trihidroxistilbeno en los modelos 3,4,5 y 7,8, 10. a) Interacción del residuo glicina (GLY) 333 con un OH (modelo 3) b) Interacción glutámico (GLU) 396 con un residuo OH (modelo 4), c) Interacción del glutámico (GLU) 329 con un residuo OH (modelo 5), d) Interacción glutámico (GLU) 396 con un residuo OH (modelo 7), e) Interacción glicina (GLY) 333 con un residuo OH (modelo 8), f) Interacción asparagina (ASN) 383 con un residuo OH (modelo 10).

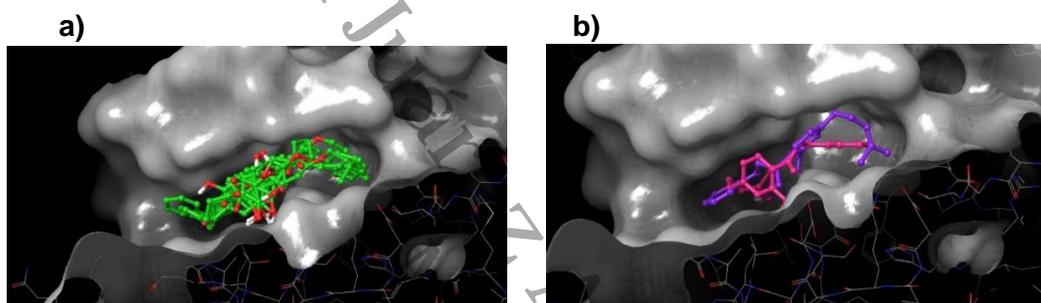


Figura 49. Interacción del sitio catalítico de la proteína p21 con la molécula de dihidrocodeína. a) Interacción en el sitio catalítico de p21 con los modelos de la dihidrocodeína (1,2,3,4,5,6,7,8,9 y 10). b) Interacción de p21 con la molécula de interés (dihidrocodeína) en los modelos 5 (morado) y 7 (rosa).

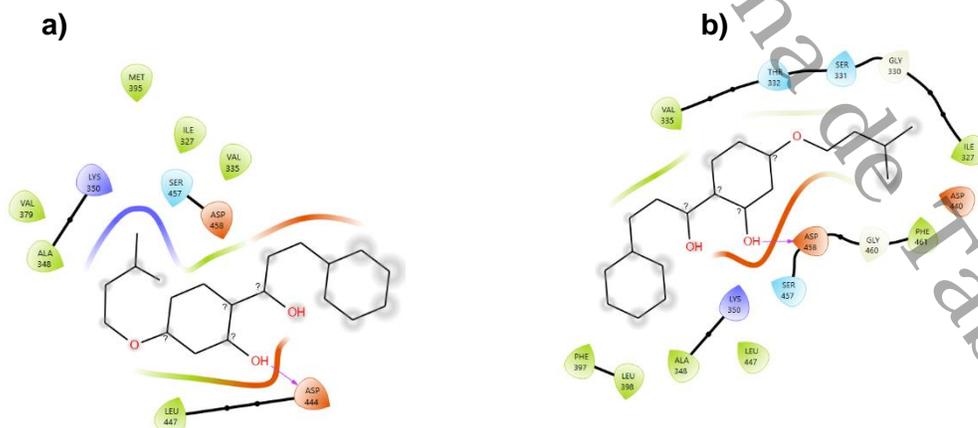


Figura 50. Mapa de interacción de los residuos de aminoácidos del sitio catalítico de P21 en la molécula dihidrocodeína. a) Interacción del residuo de asparagina (ASP) 444 con un grupo (OH) (modelo 5). b) Interacción de la asparagina (ASP) 458 con un alcohol (OH) (modelo 7).

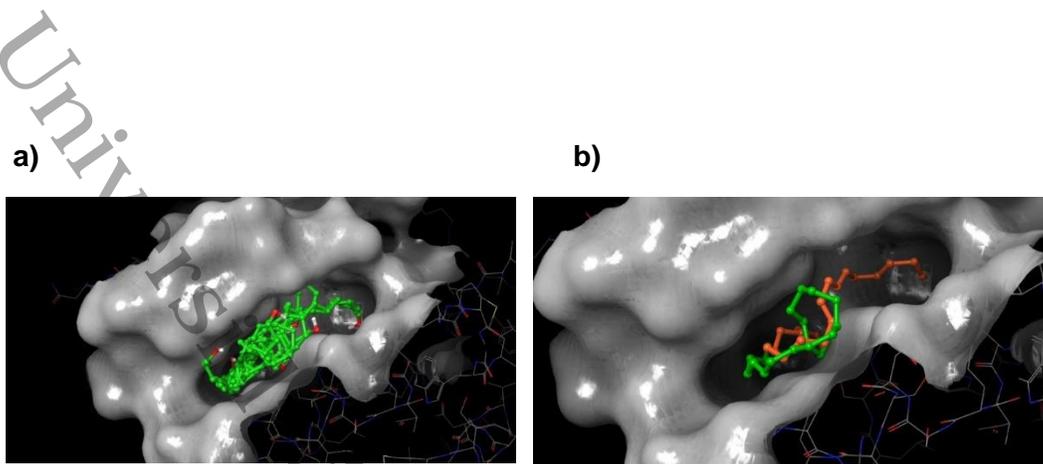


Figura 51. Interacción del sitio catalítico de la proteína p21 con la molécula 9E,12E,15E-octadecatrien-1-ol. a) Se muestran los modelos 1,2,3,4,5,6,7,8,9 y 10 con la molécula de interés 9E,12E,15E-octadecatrien-1-ol. b) Interacción del modelo 1 (verde) y naranja (9) de la proteína p21 con la molécula 9E,12E,15E-Octadecatrien-1-ol.

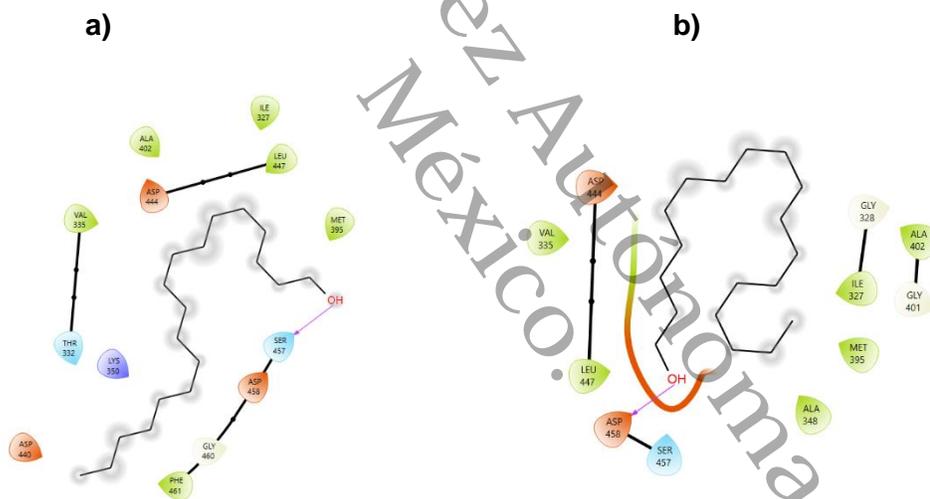
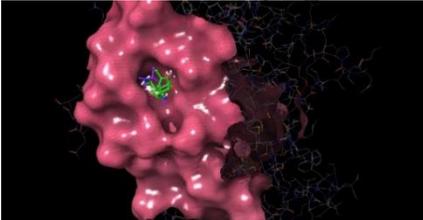


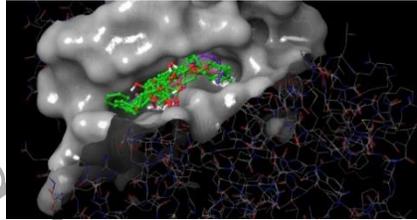
Figura 52. Mapa de interacción de los residuos de aminoácidos del sitio catalítico de p21 en molécula 9E,12E,15E-octadecatrien-1-ol. a) Interacción del residuo serina (SER) 457 con un OH. b) Interacción de la asparagina (ASP) 458 con un alcohol (OH).

11.7.4 Sitios de unión de la proteína P21

a)



b)



c)

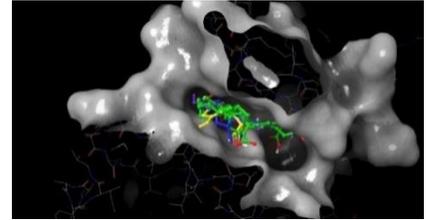


Figura 53. Otros sitios de unión de la proteína P21. En estas imágenes observamos el sitio de unión al que más se une la proteína en este caso se colocó un solo sitio, pero con diferentes moléculas. a) Se observa ácido pentanoico, 4-amino-, (1), en la figura b) Se observa la molécula dihidrocodeína, y en la figura c) Se observa el ácido dodecanodioico unidos a la proteína p21.

XII. DISCUSIÓN

El cáncer es una enfermedad caracterizada por la proliferación descontrolada de las células, que invaden a los tejidos y como consecuencia a los órganos del cuerpo humano, México y el mundo actualmente presenta un incremento en la problemática respecto al cáncer dado que día con día son más las personas que padecen esta enfermedad (Roy *et al.*,2016; Saiki *et al.*, 2016).

La evaluación cualitativa de LC-MS nos permitió obtener cromatogramas que muestran, moléculas presentes en el extracto hidroalcohólico de la semilla de *Manilkara zapota*, determinándose la presencia de 9 moléculas, que se mencionan a continuación: ácido pentanoico, 4-amino (1), ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico, ácido dodecanodioico, 3,4',5-trihidroxistilbeno, curmadiona, 16:4 (4Z,7Z,10Z,13Z) ácido hexadeca-tetraenoico., 9Z,12Z,15Z-octadecatrienal, dihidrocodeína y 9E,12E,15E-octadecatrien-1-ol indicadas en la (tabla 1). Lo cual coincide con (Rigo *et al.*,2018; Canalias *et al.*,2018) que menciona a la cromatografía líquida de alta resolución acoplada a masas como un principio de medida que permite separar los componentes de una muestra en dos fases inmiscibles una fase estacionaria y una fase móvil. Y de acuerdo con (Santisteban *et al.*,2003), los avances en espectrometría de masas (MS) han permitido el análisis de proteínas celulares y metabolitos (proteoma y metaboloma respectivamente) en una escala inimaginable. Los metabolitos determinados anteriormente, en este análisis serán favorables a futuro para el desarrollo de nuevos fármacos evaluados y cuantificados a través de las propiedades existentes como lo son su m/z, sus tipos de iones, el tiempo de retención, su fórmula molecular y sus fragmentaciones.

Para realizar el *docking* molecular entre los factores de transcripción p53 y p21 con las 9 moléculas obtenidas de *Manilkara zapota* se seleccionaron las moléculas mencionadas anteriormente obtenidas en el LC-MS, los resultados obtenidos evidencian que en la semilla de *Manilkara zapota* existen metabolitos que tiene la capacidad de interactuar con el sitio de unión al ADN en p53 y con el sitio catalítico de unión de la serina, treonina y quinasa, obteniéndose como resultado que existe interacción de cinco moléculas con

p53 que son: ácido pentanoico, 4-amino-, (1), ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico, ácido dodecanodioico, 3,4',5-trihidroxistilbeno (Resveratrol), dihidrocodeína y seis moléculas con p21, que fueron ácido pentanoico, 4-amino-, (1), ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico, ácido dodecanodioico, 3,4',5-trihidroxistilbeno (Resveratrol), dihidrocodeína y 9E,12E,15E-octadecatrien-1-ol, de las cuales cinco coinciden para ambas proteínas. Ya que se encuentran estudios nulos para la interacción de lo antes mencionado se concuerda con lo que dice (Velasquez *et al.*,2013; Drosos *et al.*,2013;). El acoplamiento molecular es una técnica de mecánica molecular ampliamente utilizada para predecir energías y modos de enlace entre ligando y proteínas.

El *docking* molecular puede ser aplicado con dos enfoques distintos. El primero de ellos describe la proteína y el ligando como superficies complementarias. El segundo intenta recrear las energías de interacción entre ambas moléculas en su proceso de acoplamiento. Ambos enfoques tienen ventajas y limitantes que mejoran la unión ligando-receptor aumentando su actividad biológica (Rojas *et al.*,2018), esta información es de gran utilidad en el estudio de nuevos compuestos con efectos terapéuticos.

El 3,4',5-trihidroxistilbeno (Resveratrol) presenta interacción con ambas proteínas por lo que es un indicativo que contiene propiedades para el desarrollo de fármacos que contrarresten el cáncer, y concuerda con lo que dice (Ren *et al.*,2021; Xin-Yi-Kwah *et al.*,2021). El resveratrol tiene una lista inagotable de beneficios para la salud, desde reforzar la inmunidad, retardar los procesos de envejecimiento e imitar los efectos de la restricción calórica, lo que conduce a sus efectos anti obesidad, hasta acciones específicas que previenen o alivian enfermedades como la diabetes, así como enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares. Lo más importante es que una amplia investigación ha reiterado su papel supresor sobre el cáncer. El resveratrol actúa como un agente quimiopreventivo en las cuatro etapas principales de la carcinogénesis, a saber, iniciación, promoción, progresión y metástasis, y también ha demostrado eficacia para el tratamiento del cáncer *in vitro* e *in vivo*. Con sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antitumorales directas, el resveratrol tiene un gran potencial como agente complementario a la quimioterapia convencional. Por otra parte, la dihidrocodeína es un derivado semisintético de la codeína formado por la

hidrogenación del doble enlace de la cadena principal de la molécula de codeína y es utilizada frecuentemente para el tratamiento del cáncer y el dolor crónico no maligno de intensidad moderada como lo indica (Wojciech *et al.*,2011, Przemysaw *et al.*,2011). Esto concuerda, que la dihidrocodeína además de presentar interacción con ambas proteínas, también presenta efectos terapéuticos que pondrían evaluar su afinidad predominante en pacientes con cáncer que presenten dolor. De las otras cuatro moléculas identificadas en la interacción con los factores de transcripción p53 y p21, que son factores de transcripción frecuentemente implicados en el cáncer, no existen estudios que ayuden a identificar sus beneficios en contra del cáncer, por lo tanto, quedan abiertas las brechas, para futuras investigaciones que ayuden a complementar lo obtenido en los resultados de este trabajo.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

XIII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Manilkara zapota* contiene actividad antioxidante y antiproliferativa.
- El LC/MS permitió obtener cromatogramas que muestran moléculas presentes en el extracto hidroalcohólico de la semilla de *Manilkara zapota*. Las moléculas identificadas en los cromatogramas fueron las siguientes: el ácido pentanoico, 4-amino, el ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico, el ácido dodecanodioico, el 3,4',5-trihidroxistilbeno (Resveratrol), la curmadiona, 16:4(4Z,7Z,10Z,13Z) ácido hexadeca-tetraenoico, el 9Z,12Z,15Z-Octadecatrienal, la dihidrocodeína y 9E,12E,15E-octadecatrien-1-ol.
- Las estructuras químicas y las fragmentaciones de las moléculas obtenidas se realizaron en el programa chemdraw con ayuda de las siguientes herramientas que este maneja, como lo son: el enlace sólido, enlaces múltiples, benceno, herramientas de fragmentación, elementos de dibujo y borrador.
- De la página protein data bank se obtuvo la estructura cristalográfica de los factores de transcripción p53 y p21 en tercera dimensión al igual que sus datos cristalográficos.
- Las moléculas seleccionadas para realizar el *docking* tienen afinidad con las proteínas (P53 y P21), el ácido pentanoico, 4-amino, el ácido 12-oxo-5E,8E,10Z-dodecatrienóico, el ácido dodecanodioico, el 3,4',5-trihidroxistilbeno (Resveratrol), la dihidrocodeína y el 9,12,15-octadecatrien-1-ol, indican interacciones de tipo puente de hidrógeno, unidas al sitio de unión al ADN para p53 y al sitio catalítico de la serina treonina y quinasa (con respecto a p21).
- Las moléculas seleccionadas: ácido pentanoico, 4-amino, el ácido (5E,8E,10Z)-12-oxododecatrienóico, el ácido dodecanodioico, el 3,4',5-trihidroxistilbeno (resveratrol), la curmadiona, 16:4(4Z,7Z,10Z,13Z) ácido hexadeca-tetraenoico, el 9Z,12Z,15Z-Octadecatrienal, la dihidrocodeína y 9E,12E,15E-octadecatrien-1-ol están interactuando con los aminoácidos como la Thr, Tyr, Pro, Ile, Asn, Ser, Phe, Asp, Gln, Val, Gly y el Glu.

- La semilla de *Manilkara zapota* presenta 9 metabolitos secundarios, que interactúan con los factores de transcripción p53 y p21, a través de las moléculas seleccionadas, las cuales nos permitirán en un futuro proponerlas como posibles candidatas, en la elaboración de un fármaco que actúe contra el cáncer.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

XIV. REFERENCIAS CITADAS

- Roy PS, Saikia BJ. (2016). Cancer and cure: A critical analysis. *Indian J Cancer*. 53(3), pp. 441-442. Doi : 10.4103/0019-509X.200658.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, RL., Laversanne, M., Soerjomataram, I., y Jemal, A. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 71(3), pp. 209–49. Doi: 10.3322/caac.21660.
- Allard, PM., Bisson, J., Azzollini, A., Pauli, GF., Cordell, GA., y Wolfender, JI. (2018). Pharmacognosy in the digital era: shifting to contextualized metabolomics. *Current Opinion in Biotechnology*. pp. 54:57–64. Doi: 10.1016/j.copbio.2018.02.010.
- López, M. (2008). Plantas medicinales. *Rev. Offarm.*; 27(4):82–7.
- García, M., García, A., Ramírez, J., Robles, B., Zañudo, G., y Rocha, S. (2012). Conocimiento y uso de las plantas medicinales en la zona metropolitana de Guadalajara. *Desacatos*. Pp. 29-44. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=13923111003>
- Ling Tan, B., Norhaizan, ME. (2019). El extracto de agua de hoja de *Manilkara zapota* (L.) P. Royen desencadenó la apoptosis y activó la vía dependiente de caspasa en la línea celular de cáncer colorrectal humano HT-29. *Farmacéutico biomédico*. Pp.110:748–57. Doi: 10.1016/j.biopha.2018.12.027.
- Hernández, GI., Dzul, RE., Velázquez, MG., Cresencio, P., Hernández, E., y Aguirre, FJ. (2019). La influencia de las temperaturas de secado en los perfiles metabólicos y la actividad antioxidante de las hojas de *Manilkara zapota*. *Metabolitos*. Pp. 9(10):217. Doi: 10.3390/metabo9100217.
- Douglas, A. (2001). Pharmacognosy in the 21st century. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. Pp. 135 -148. Doi: 10.1211/0022357011775334.
- Cortez, V., Macedo JP., Hernández, M., Arteaga, G., Espinosa, D., y Rodríguez, JF. (2004). Farmacognosia: Breve historia de sus orígenes y su relación con las

- ciencias médicas. Revista Biomédica. 1;15(2), Pp.123–36. <https://medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2004/bio042g.pdf>.
- Velasquez, M., Drosos. J., Gueto, C., Márquez, J., Vivas, R. (2013). Método acoplado Autodock–PM6 para seleccionar la mejor pose en estudios de acoplamiento molecular. Rev. Colomb. Quim.; Pg. 42 (1): 1-8. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28042013000100007
 - Pinzi L, Rastelli G. (2019). Molecular docking: changing paradigms in drug discovery. Int J Mol Sci. 20(18). Pp. 43-31. Doi: 10.3390/ijms20184331.
 - Ballón, WG, Grados, RE. (2019). Acoplamiento molecular: criterios prácticos para la selección de ligandos biológicamente activos e identificación de nuevos blancos terapéuticos. RevCsFarm y Bioq. 7 (2) Pp. 55–72. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2310-02652019000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=en
 - Ferreira, LG., Dos Santos, RN., Oliva, G., Andricopulo, AD. (2015). Structure-based molecular docking and drug design strategies. Molecules. 22;20(7). Pp. 13384–421. Doi: 10.3390/molecules200713384.
 - Bonnin, R., Canalías, F., Esteve, S., Gella, FJ., González B, y López, RM. (2018). Desarrollo de procedimientos de medida basados en la cromatografía líquida de alta resolución. Revista del Laboratorio Clínico. 11(3). Pp.137–46. Doi: 10.1016/j.labcli.2017.05.001
 - Romero, R., Fernández, JL., Plaza, P., Garrido, A., Martínez, JL. (2007). Empleo de la espectrometría de masas como herramienta para la determinación de tóxicos en alimentos: hacia la seguridad alimentaria. Revista Española de Salud Pública. 81(5). Pp. 461–74. https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57272007000500004
 - Hernández, J., Quinto, P., Aguilar, JO., Barbosa, GR., Razo, WR., y Toledo, M. (2019). Secado solar de chicozapote (*Manilkara zapota*). Científica. 23(2). Pp.135–9. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61459623006>.

- Abu, M., Abdul, M., Rowshanul, M., Rezaul, M. (2011). Antimicrobial Investigation on *Manilkara zapota* (L.) P. Royenî, Int. J. Drug Dev. & Res. 3(1).Pp.185-190. <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=b4a532ff817797f7227721a5e4c2206b78b8997c>
- Fayek, N., Monem, A., Mossa., Y, Meselhy., M, y Shazly, A. (2012). Estudio químico y biológico de hojas de *Manilkara zapota* (L.) Van Royen (Sapotaceae) cultivadas en Egipto. *Farmacognosia Res.* 4(2). Pp.85–91. Doi: 10.4103/0974-8490.94723.
- Pravin, K., Shashikant, D. (2018). *Manilkara zapota* (L.) Royen. Fruit Peel: A Phytochemical and Pharmacological Review. *Systematic Reviews in Pharmacy.* 14;10(1). Pp.11–4. DOI: 10.5530/srp.2019.1.2.
- Samra, B. (2019). Importancia farmacológica de *Manilkara zapota* y sus constituyentes bioactivos. *Review. Blacpma.* 18(4). Pp.347-358. <https://www.blacpma.ms-editions.cl/index.php/blacpma/article/view/93/86>
- Fernández, C., Vela, M., Ibarra, I. (2009). Espectrometría de masas en tándem: una nueva herramienta para el estudio de la metabolómica en pediatría. *Acta Pediátrica de México.* 30(5) Pp. 258-263. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=423640319005>
- Roy, P., Saikia, B. (2016). Cancer and cure: A critical analysis. *Indian J Cancer.* 53(3). Pp. 441-442. Doi: 10.4103/0019-509X.200658.
- Chacón, M. (2009). Cáncer: reflexiones acerca de incidencia, prevención, tratamiento y mitos. *Cuadernos de la Facultad de Humanidades y Ciencias Sociales. Universidad Nacional de Jujuy.* (37). Pp. 181-193. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=18516803007>
- Sánchez, N. (2013). Conociendo y comprendiendo la célula cancerosa: Fisiopatología del cáncer. *Revista Médica Clínica Las Condes.* 24(4). Pp. 553–562. DOI: 10.1016/S0716-8640(13)70659-X
- Nevedomskaya, E., Baumgart, S., y Haendler, B. (2018). Recent Advances in Prostate Cancer Treatment and Drug Discovery. *International Journal of Molecular Sciences.* 19(5). Pp.1359. Doi: 10.3390/ijms19051359

- Sumanasuriya, S., De Bono, J. (2018). Treatment of Advanced Prostate Cancer: A Review of Current Therapies and Future Promise. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. Pp. 8(6). Doi: 10.1101/cshperspect.a030635
- Colon cancer. (2018). American Family Physician. Pp. 97(10). <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2018/0515/p658-s1.html>
- Arias, A., García, B., García, N., Uribe, T., Uribe, P., y Betancur, F. (2013). Cáncer colorrectal: una mirada clínica, genética y molecular. Archivos de Medicina (Col). 13(2). Pp. 208-219. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=273829753010>
- Granados Mora, E. Cáncer colorrectal: un enfoque actualizado del tamizaje y epidemiología. Revista médica de costa rica y Centroamérica LXXI. 2014; Pg. (612) 763 – 770.
- García, S., Gómez, F., Trejo, L., y Herrera, É. (2013). Factores de transcripción involucrados en respuestas moleculares de las plantas al estrés osmótico Rev. fitotec. 36 (2). Pp.105-115. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802013000200003
- Gutiérrez, M., Calixto, C., Gómez, A., Mesa, V. García, M., Vivas N., y Daza, M. (2019). Más allá de las moléculas lo que los clínicos desconocen: Acortando brechas. Universitas Médica. 60(2). Pp.1–25. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S2011-08392019000200026&script=sci_abstract&lng=es
- Barabutis, N., Schally, A., y Siejka, A. (2018). P53, GHRH, inflammation and cancer. EBioMedicine. 37. Pp. 557–62. Doi: 10.1016/j.ebiom.2018.10.034
- Rangel, A., Piña, P., y Salcedo, M. (2006). Variaciones genéticas del gen supresor de tumores TP53: relevancia y estrategias de análisis. Rev. invest. Clín. 58 (3). Pp. 254–264. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-83762006000300010
- Chuaire, L., Sánchez, M., y Ramírez S. (2008). P53 y su papel en el epitelio superficial del ovario. Invest. Clín. 49 (4). Pp.561–593.

https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332008000400011

- Kitayner, M., Rozenberg, H., Kessler, N., Shaulov, L., y Haran, T. (2006). Structural Basics of DNA Recognition by p53 Tetramers. *Article*. 22 (6). Pp. 741-753. Doi: 10.1016/j.molcel.2006.05.015.
- Shamloo, B., y Usluer, S. (2019). P21 en la investigación del cáncer. *Cánceres Basilea*. 11 (8). Pp. 1178. Doi: 10.3390/cancers11081178.
- Abbas, T., y Dutta, A. (2009). P21 en cáncer: redes intrincadas y múltiples actividades. *Nat Rev Cancer*. 9 (6). Pp. 400–414. Doi : 10.1038/nrc2657.
- Medina, V., Gómez, G., y, Medina, D. (2018). Nuevos tratamientos y economía: reto difícil para la atención al cáncer. *Medicentro Electrónica*. 22 (2) Pp. 185-188. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30432018000200015
- Velasquez, M., Drosos, J., Gueto, C., Márquez, J., Vivas, R. (2013). Método acoplado Autodock–PM6 para seleccionar la mejor pose en estudios de acoplamiento molecular. *Rev. Colomb. Quim.* 42 (1). Pp.1-8. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28042013000100007
- Lozano, J., Scior, T. (2014). ¿Qué sabe Ud. Acerca de... Dinámica Molecular? *Rev. mex. cienc. Farm.* 45 (1). Pp.86-88. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57932293010>
- Alfaro, J. (2014). Métodos de simulación molecular: una revisión de las herramientas más actuales. *Ingeniería. Revista de la Universidad de Costa Rica*. 24 (2) Pp.117-127. <https://www.redalyc.org/pdf/441/44170533007.pdf>
- Micocci, L. (2018). Química biológica. *Library of Medicine*. <https://www.studocu.com/cl/document/universidad-del-bio-bio/bioquimica/06-quimica-biologica-autor-leandra-miococci/18062060>
- Zhou, F., Xu, Y., Mu, X., & Nie, Y. (2022). A Sustainable Approach for Synthesizing (R)-4-Aminopentanoic Acid From Levulinic Acid Catalyzed by Structure-Guided Tailored Glutamate Dehydrogenase. *Front Bioeng Biotechnol*. 9, 770302. Doi: 10.3389/fbioe.2021.770302

- Rudiño, E., Quintero, V., Juárez, V. (2022). El Protein Data Bank (PDB) y su impacto en la investigación científica. *Alianzas y Tendencias BUAP*. 2022;7(25). Pp.21–35.
<https://www.aytbuap.mx/aytbuap-725/el-protein-data-bank-pdb-y-su-impacto-en-la-investigación-científica>
- Rozemuller, E., Kropveld, A., Kreyveld, E., Leppers, F., Scheidel, K., Sloomweg, P., & Tilanus, M. (2022). P53 Homo sapiens. *National Library of Medicine*. 25 (2). Pp.109-116. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/BAC16799.1>
- Salzberg, S., Puiu, D., Sherman, R., Shumante, A., Pertea, M., Varabyou, A., & Zimin, A. (2022). P21 (RAC1) activated kinase 4 Homo sapiens. *National Library of Medicine*.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=10298>
- Boxu, R., Marabeth X., Cuiliu, Z., Ma, M., & Shanmugam, L. (2021). Resveratrol for cancer therapy: Challenges and future perspectives. *Cancer Letters*. 515. Pp 63-72. Doi: 10.1016/j.canlet.2021.05.001.
- Ko, J., Sethi, G., Um, J., Shanmugam, M., Arfuso, F., Kumar, A., Bishayee, A., & Ahn, K. (2017). The Role of Resveratrol in Cancer Therapy. *Int J Mol Sci*. 18(12), 2589. <https://doi.org/10.3390/ijms18122589>
- Wojciech, L. (2009). Role of oxycodone and oxycodone/naloxone in cancer pain management. *Pharmacological reports*. 62 (4). Pp. 578-591. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(10\)70316-9](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(10)70316-9)
- Hernández, J., Quinto, P., Aguilar, J., Barbosa, G., Razo, W., y Toledo, M. (2019). Secado solar de chicozapote (*Manilkara zapota*). *Instituto Politécnico Nacional. Científica*. 23(2). Pp. 135-139.
- Kuklinski, C. (2003). *Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Ediciones Omega. <https://www.redalyc.org/journal/614/61459623006/html/>
- Brown, T. (2014). Chemdraw. *The science teacher*. Tomo 81, No. 2.

- Mackay, J., Jemal, A., Lee N., Parkin, D., (2006). El Atlas del Cáncer. Atlanta: Sociedad Americana del Cáncer. https://canceratlas.cancer.org/wp-content/uploads/2019/10/ACS_CA3_Book.pdf
- Sasteban T. *Cromatografía de líquidos- espectrometría de masas*. [Tesis doctoral] Xarxa; 2003.
- Rojas G. *Ludificación de docking molecular para acelerar el diseño de fármacos*. [Tesis para obtener el título de Ingeniero civil informático]. Chile: Universidad De Concepción; 2018.
- Faicán, KV. Intriago, NL. (2019). *Propuesta de aprovechamiento de la semilla de chicozapote (Manilkara zapota) en la culinaria*. [Tesis para obtener el título de licenciado en gastronomía, Universidad de Guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/47007>
- Villegas D. (2016). *Usos del chicozapote (Manilkara zapota) en México*. [Tesis para obtener el título de Químico farmacéutico Industrial, Instituto politécnico Nacional]. <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/25168/VILLEGAS%20G%C3%93MEZ%20DANIEL%20ARTURO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Aristizábal, H. (2015). *Técnica de simulación por dinámica molecular para la nano identificación y nano rayado de películas delgadas* [Tesis para obtener el título de Magister en ciencias-físicas, Manizales, Universidad de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/59478/75090030.2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Basto López, GM. (2019). *Efecto antioxidante y antiproliferativo de los extractos de Manilkara zapota (Chicozapote) y Nephelium lappaceum (Rambután)*. [Tesis para obtener el título de licenciado en químico farmacéutico biólogo, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco].

Páginas de internet.

- Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer. (2023). INEGI. [Archivo PDF].
https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2022/EAP_CANCER22.pdf
- Cromatografía líquida de alta eficiencia. (2023). [Archivo PDF].
https://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_liquida_de_alta_eficacia.pdf
- Cáncer. (3 de febrero, 2022). Organización mundial de la salud.
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- Genética del cáncer. (17 de agosto, 2022) Instituto nacional del cáncer.
<https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/genetica>
- Argueta A, Gallardo MC. (2009). Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana: Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana.
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=chicozapote>
- Cáncer de próstata-Versión para pacientes. (s.f.). Instituto Nacional del Cáncer. Cancer.gov. <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/prostata>
- Pruebas y exámenes para el cáncer de próstata. (s.f.). MedlinePlus.
<https://medlineplus.gov/spanish/prostatecancerscreening.html>
- Día mundial contra el cáncer. (31 de marzo, 2023). Gobierno de México.
<https://www.gob.mx/insabi/articulos/dia-mundial-contra-el-cancer-de-colon-31-de-marzo?idiom=es>
- Martínez, R. (12 de abril, 2016). Síntomas del cáncer colorrectal, el más frecuente del aparato digestivo.
<https://www.topdoctors.es/articulos-medicos/sintomas-del-cancer-colorrectal-el-mas-frecuente-del-aparato-digestivo#>
- Gen P53. (s.f.). Instituto Nacional del Cáncer.
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/gen-p53>

- Diada (Genética). (03 de junio, 2017). Glosarios especializados. <https://glosarios.servidor-alicante.com/genetica/diada>.
- El cáncer de mama se convierte en el más frecuente a nivel mundial. (4 de febrero, 2021). CódigoF. <https://codigof.mx/el-cancer-de-mama-se-convierte-en-el-mas-frecuente-a-nivel-mundial/>
- Cáncer. (3 de febrero, 2022). Organización mundial de la salud. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- Instituto Nacional del Cáncer. (s.f.). Carcinoma. <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/carcinoma>.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

XV. ANEXOS

Constancia y carta de aceptación del cartel presentando en el congreso nacional de bioquímica 2022.



SMB
65 años
1957-2022

Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C.

FUNDADA EN 1957

MESA DIRECTIVA 2021 - 2023

PRESIDENTA
Dra. Soledad María Teresa Hernández Sotomayor

VICE-PRESIDENTE
Dr. Agustín Guerrero Hernández

SECRETARIA TESOQUERA
Dra. Bertha María Josefina González Pedraza

SUB-SECRETARIA TESOQUERA
Dra. María de Lourdes Girard Cuesy

Mérida Yuc., a 14 de julio de 2022.

Pablo de Jesus De La Cruz Jiménez
División Académica de Ciencia Básicas
Grupo de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
Tabasco

Estimado (a) Congresoista:

Se le informa que su trabajo:

IDENTIFICATION AND EVALUATION OF THE INTERACTION BETWEEN BIOMOLECULES PRESENT AT THE "Manilkara zapota" SEEDS VERSUS THE OF P53, P21, Δ-LACTOFERRIN AND β-CATENIN CRYSTALLOGRAPHIC STRUCTURES

de los autores:

Pablo de J. de la Cruz Jiménez, Viviana G. Pérez Rodríguez, José A. González Garrido, Oswaldo I. Hernández Abreu, Claudia I. Avitia Domínguez, Alfredo Téllez Valencia, Vanessa Dehennoutt, Edgar Zenteno Galindo, Carlos J. Solorzano Mata, Carlos J. López Victorio, Adelma Escobar Ramírez

ha sido aceptado para su presentación durante el XXXIII Congreso Nacional de Bioquímica del 16 al 21 de octubre de 2022, en la ciudad de Mérida, Yuc.

Atentamente
Por el Comité Organizador



Dra. Teresa Hernández-Sotomayor
Presidenta
Mesa Directiva 2021-2023

www. smb.org.mx

facebook.com/RedSMB

correo: nacional@smb.org.mx

SMB

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 2021-2022

PRESIDENTA

Dra. Soledad María Teresa Hernández
Sotomayor

VICEPRESIDENTE

Dr. Agustín Guerrero Hernández

SECRETARIA TESORERA

Dra. Bertha María Josefina González Padrao

SUBSECRETARIA TESORERA

Dra. María de Lourdes Girani Cussey

SOCIOS FUNDADORES

Dr. Barbarin Arreguin Lozano
Dr. Edmundo Calva Cuadrilla
Dr. Guillermo Cervasel Bandoval
Dr. Joaquín Cravito
Dr. Carlos del Río Estrada
Dr. Silvestre Frérik Freund
Dr. Mario García Hernández
Dr. Jesús Guzmán García
Dr. Jesús Kumate Rodríguez
Dr. José Laguna García
Dr. Guillermo Masoué Helguera
Dr. Raúl Odearza Vidaurama
Dr. Elvira G. Pardo Cadena
Dr. Guillermo Soberón Acevedo

Se otorga la presente

CONSTANCIA a:

Pablo de J. De la Cruz Jiménez

Quien asistió y presentó el trabajo:

IDENTIFICATION AND EVALUATION OF THE INTERACTION BETWEEN BIOMOLECULES PRESENT AT THE "MANILKARA ZAPOTA" SEEDS VERSUS THE OF P53, P21, Δ-LACTOFERRIN AND β-CATENIN CRYSTALLOGRAPHIC STRUCTURES

Por: Pablo de J. de la Cruz Jiménez, Viviana G. Pérez Rodríguez,
José A. González Garrido, Oswaldo I. Hernández Abreu, Claudia I. Avitia
Dominguez, Alfredo Téllez Valencia, Vanessa Dehennaut†, Edgar
Zenteno Galindo†, Carlos J. Solorzano Mata, Carlos J. López Victorio,
Adelma Escobar Ramírez

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

Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional

Título de Tesis:	IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN DE BIOMOLÉCULAS DE LA SEMILLA DE Manilkara zapota FRENTE A P53 Y P21
Autor(a) o autores(ras) de la Tesis:	VIVIANA GUADALUPE PÉREZ RODRÍGUEZ
ORCID:	https://orcid.org/0009-0007-8620-3624
Resumen de la Tesis:	<p>El cáncer es una enfermedad en el que algunas células del cuerpo crecen sin control y se propagan a otras partes del cuerpo. Los cánceres se agrupan según el órgano o tejido de origen, más también, según las características moleculares de las respectivas células cancerosas. En la actualidad existen diferentes tratamientos para combatir el cáncer, sin embargo, solo en algunos casos son efectivos, además provocan considerables efectos secundarios en la persona que lo recibe; es por ello que a la fecha no se cuenta con un tratamiento efectivo.</p> <p>Existen alrededor de 10 millones de personas en el mundo que padecen cáncer y, de acuerdo a los avances tecnológicos de los últimos años, ahora es posible analizar a detalle la composición molecular de diferentes tipos de cáncer en cortos períodos de tiempo. Sabemos que nuestro país posee gran cantidad de plantas y frutas con efectos curativos (medicinales) y en la mayoría de los casos no todas han sido estudiadas; es por ello que en el presente trabajo se investigó a partir del extracto de la semilla de <i>Manilkara zapota</i> y de los metabolitos secundarios presentes, mediante la cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas, las moléculas obtenidas de este procedimiento fueron seleccionadas y sometidas a estudios moleculares como el acoplamiento molecular (<i>docking</i>) las cuales fueron enfrentadas, con los datos cristalográficos de los factores de transcripción p53 y p21 implicado en la división y destrucción de las células cancerosas. En un futuro, estos estudios de interacción podrían permitir el diseño de un fármaco que se adapte de forma óptima al tratamiento de un cáncer en particular.</p>

Universidad Juárez
México

Cancer is a disease in which some cells in the body grow uncontrollably and spread to other parts of the body. Cancers are grouped according to the organ or tissue of origin, but also according to the molecular characteristics of the respective cancer cells.

Currently there are different treatments to combat cancer, however, only in some cases are they effective, and they also cause considerable side effects in the person who receives them; That is why to date there is no adequate treatment that is effective.

There are around 10 million people in the world who suffer from cancer and, according to technological advances in recent years, it is now possible to analyze in detail the molecular composition of different types of cancer in short periods of time. We know that our country has a large number of plants and fruits with healing (medicinal) effects and in most cases not all have been studied; That is why in the present work it was investigated from the Manilkara zapota seed extract and the secondary metabolites present, using high-resolution liquid chromatography coupled to mass spectrometry, the molecules obtained from this procedure were selected and subjected to molecular studies such as molecular docking (docking), which were confronted with crystallographic data of the transcription factors p53 and p21 involved in the division and destruction of cancer cells.

In the future, these interaction studies could allow the design of a drug that is optimally adapted to the treatment of a particular cancer.

Palabras claves de la Tesis:

Biomolécula, *Docking*, *Manilkara zapota*, P53, P21, Metabolitos, Moléculas, LC-MS.

Biomolecule, *Docking*, *Manilkara zapota*, P53, P21, Metabolites, Molecules, LC-MS.

Referencias citadas:

- Roy PS, Saikia BJ. (2016). Cancer and cure: A critical analysis. Indian J Cancer. 53(3), pp. 441-442. Doi : 10.4103/0019-509X.200658.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, RL., Laversanne, M., Soerjomataram, I., y Jemal, A. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 71(3), pp. 209-49. Doi: 10.3322/caac.21660.
- Allard, PM., Bisson, J., Azzollini, A., Pauli, GF., Cordell, GA., y Wolfender, JI. (2018). Pharmacognosy in the digital era: shifting to contextualized metabolomics. Current Opinion in Biotechnology. pp. 54:57 - 64. Doi: 10.1016/j.copbio.2018.02.010.
- López, M. (2008). Plantas medicinales. Rev. Offarm.; 27(4):82-7.
- García, M., García, A., Ramírez, J., Robles, B., Zañudo, G., y Rocha, S. (2012). Conocimiento y uso de las plantas medicinales en la zona metropolitana de Guadalajara Desacatos. Pp. 29-44.

<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=13923111003>

• Ling Tan, B., Norhaizan, ME. (2019). El extracto de agua de hoja de *Manilkara zapota* (L.) P. Royen desencadenó la apoptosis y activó la vía dependiente de caspasa en la línea celular de cáncer colorrectal humano HT-29. *Farmacéutico biomédico*. Pp.110:748-57. Doi: 10.1016/j.biopha.2018.12.027.

• Hernández, Gl., Dzul, RE., Velázquez, MG., Cresencio, P., Hernández, E., y Aguirre, FJ. (2019). La influencia de las temperaturas de secado en los perfiles metabólicos y la actividad antioxidante de las hojas de *Manilkara zapota*. *Metabolitos*. Pp. 9(10):217. Doi: 10.3390/metabo9100217.

• Douglas, A. (2001). Pharmacognosy in the 21st century. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. Pp. 135 -148. Doi: 10.1211/0022357011775334.

• Cortez, V., Macedo JP., Hernández, M., Arteaga, G., Espinosa, D., y Rodríguez, JF. (2004). Farmacognosia: Breve historia de sus orígenes y su relación con las 80 ciencias médicas. *Revista Biomédica*. 1;15(2), Pp.123-36.

<https://medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2004/bio042g.pdf>.

• Velasquez, M., Drosos. J., Gueto, C., Márquez, J., Vivas, R. (2013). Método acoplado Autodock-PM6 para seleccionar la mejor pose en estudios de acoplamiento molecular. *Rev. Colomb. Quim.*; Pg. 42 (1): 1-8.

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28042013000100007

• Pinzi L, Rastelli G. (2019). Molecular docking: changing paradigms in drug discovery. *Int J Mol Sci*. 20(18). Pp. 43-31. Doi: 10.3390/ijms20184331.

• Ballón, WG, Grados, RE. (2019). Acoplamiento molecular: criterios prácticos para la selección de ligandos biológicamente activos e identificación de nuevos blancos terapéuticos. *RevCsFarm y Bioq*. 7 (2) Pp. 55-72.

http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2310-

[02652019000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2310-02652019000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=en)

• Ferreira, LG., Dos Santos, RN., Oliva, G., Andrícopulo, AD. (2015). Structurebased molecular docking and drug design strategies. *Molecules*. 22;20(7). Pp. 13384 - 421. Doi: 10.3390/molecules200713384.

• Bonnin, R., Canalías, F., Esteve, S., Gella, FJ., González B, y López, RM. (2018). Desarrollo de procedimientos de medida basados en la cromatografía líquida de alta resolución. *Revista del Laboratorio Clínico*. 11(3). Pp.137 - 46. Doi: 10.1016/j.labcli.2017.05.001

• Romero, R., Fernández, JL., Plaza, P., Garrido, A., Martínez, JL. (2007). Empleo de la espectrometría de masas como herramienta para la determinación de tóxicos en alimentos: hacia la seguridad alimentaria. *Revista*

- Española de Salud Pública. 81(5). Pp. 461-74.
https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57272007000500004
- Hernández, J., Quinto, P., Aguilar, JO., Barbosa, GR., Razo, WR., y Toledo, M. (2019). Secado solar de chicozapote (*Manilkara zapota*). Científica. 23(2). Pp.135 - 9. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61459623006.81>
 - Abu, M., Abdul, M., Rowshanul, M., Rezaul, M. (2011). Antimicrobial Investigation on *Manilkara zapota* (L.) P. Royenî, Int. J. Drug Dev. & Res. 3(1).Pp.185-190. <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=b4a532ff817797f7227721a5e4c2206b78b8997c>
 - Fayek, N., Monem, A., Mossa., Y, Meselhy., M, y Shazly, A. (2012). Estudio químico y biológico de hojas de *Manilkara zapota* (L.) Van Royen (Sapotaceae) cultivadas en Egipto. Farmacognosia Res. 4(2). Pp.85 - 91. Doi: 10.4103/0974-8490.94723.
 - Pravin, K., Shashikant, D. (2018). *Manilkara zapota* (L.) Royen. Fruit Peel: A Phytochemical and Pharmacological Review. Systematic Reviews in Pharmacy. 14;10(1). Pp.11-4. DOI: 10.5530/srp.2019.1.2.
 - Samra, B. (2019). Importancia farmacológica de *Manilkara zapota* y sus constituyentes bioactivos. Review. Blacpma. 18(4). Pp.347-358. <https://www.blacpma.ms-editions.cl/index.php/blacpma/article/view/93/86>
 - Fernández, C., Vela, M., Ibarra, I. (2009). Espectrometría de masas en tándem: una nueva herramienta para el estudio de la metabolómica en pediatría. Acta Pediátrica de México. 30(5) Pp. 258-263. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=423640319005>
 - Roy, P., Saikia, B. (2016). Cancer and cure: A critical analysis. Indian J Cancer. 53(3). Pp. 441-442. Doi: 10.4103/0019-509X.200658.
 - Chacón, M. (2009). Cáncer: reflexiones acerca de incidencia, prevención, tratamiento y mitos. Cuadernos de la Facultad de Humanidades y Ciencias Sociales. Universidad Nacional de Jujuy. (37). Pp. 181-193. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=18516803007>
 - Sánchez, N. (2013). Conociendo y comprendiendo la célula cancerosa: Fisiopatología del cáncer. Revista Médica Clínica Las Condes. 24(4). Pp. 553-562. Doi: 10.1016/S0716-8640(13)70659-X
 - Nevedomskaya, E., Baumgart, S., y Haendler, B. (2018). Recent Advances in Prostate Cancer Treatment and Drug Discovery. International Journal of Molecular Sciences. 19(5). Pp.1359. Doi: 10.3390/ijms1905135982
 - Sumanasuriya, S., De Bono, J. (2018). Treatment of Advanced Prostate Cancer: A Review of Current Therapies and Future Promise. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. Pp. 8(6). Doi:

10.1101/cshperspect.a030635

• Colon cancer. (2018). American Family Physician. Pp. 97(10).

<https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2018/0515/p658-s1.html>

• Arias, A., García, B., García, N., Uribe, T., Uribe, P., y Betancur, F. (2013). Cáncer colorrectal: una mirada clínica, genética y molecular. Archivos de Medicina (Col). 13(2). Pp.208-219.

<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=273829753010>

• Granados Mora, E. Cáncer colorrectal: un enfoque actualizado del tamizaje y epidemiología. Revista médica de costa rica y Centroamérica LXXI. 2014; Pg. (612) 763 - 770.

• García, S., Gómez, F., Trejo, L., y Herrera, É. (2013). Factores de transcripción involucrados en respuestas moleculares de las plantas al estrés osmótico Rev.fitotec. 36 (2). Pp.105-115. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802013000200003

• Gutiérrez, M., Calixto, C., Gómez, A., Mesa, V. García, M., Vivas N., y Daza, M. (2019). Más allá de las moléculas lo que los clínicos desconocen: Acortando brechas. Universitas Médica. 60(2). Pp.1-25.

http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S2011-08392019000200026&script=sci_abstract&tlng=es

• Barabutis, N., Schally, A., y Siejka, A. (2018). P53, GHRH, inflammation and cancer. EBioMedicine. 37. Pp. 557 - 62. Doi: 10.1016/j.ebiom.2018.10.034

• Rangel, A., Piña, P., y Salcedo, M. (2006). Variaciones genéticas del gen supresor de tumores TP53: relevancia y estrategias de análisis. Rev. invest. Clín. 58 (3). Pp. 254-264. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-83762006000300010

• Chuaire, L., Sánchez, M., y Ramírez S. (2008). P53 y su papel en el epitelio superficial del ovario. Invest. Clín. 49 (4). Pp.561-593. https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332008000400011

• Kitayner, M., Rozenberg, H., Kessler, N., Shaulov, L., y Haran, T. (2006). Structural Basics of DNA Recognition by p53 Tetramers. Article. 22 (6). Pp. 741-753. Doi: 10.1016/j.molcel.2006.05.015.

• Shamloo, B., y Usluer, S. (2019). P21 en la investigación del cáncer. Cánceres Basilea. 11 (8). Pp. 1178. Doi: 10.3390/cancers11081178.

• Abbas, T., y Dutta, A. (2009). P21 en cáncer: redes intrincadas y múltiples actividades. Nat Rev Cancer. 9 (6). Pp. 400 - 414. Doi: 10.1038/nrc2657.

• Medina, V., Gómez, G., y Medina, D. (2018). Nuevos tratamientos y economía: reto difícil para la atención al cáncer. Medicentro Electrónica. 22 (2) Pp. 185-188. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext

&pid=S1029-30432018000200015

• Velasquez, M., Drosos, J., Gueto, C., Márquez, J., Vivas, R. (2013). Método acoplado Autodock - PM6 para seleccionar la mejor pose en estudios de acoplamiento molecular. *Rev. Colomb. Quim.* 42 (1). Pp.1-8.

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28042013000100007

• Lozano, J., Scior, T. (2014). ¿Qué sabe Ud. Acerca de... Dinámica Molecular? *Rev. mex. cienc. Farm.* 45 (1). Pp.86-88.

<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57932293010>

• Alfaro, J. (2014). Métodos de simulación molecular: una revisión de las herramientas más actuales. *Ingeniería. Revista de la Universidad de Costa Rica.* 24 (2) Pp.117-127. <https://www.redalyc.org/pdf/441/44170533007.pdf>

• Micocci, L. (2018). Química biológica. *Library of Medicine.*

<https://www.studocu.com/cl/document/universidad-del-bio-bio/bioquimica/06-quimica-biologica-autor-leandra-micocci/18062060>

• Zhou, F., Xu, Y., Mu, X., & Nie, Y. (2022). A Sustainable Approach for Synthesizing (R)-4-Aminopentanoic Acid From Levulinic Acid Catalyzed by Structure-Guided Tailored Glutamate Dehydrogenase. *Front Bioeng Biotechnol.* 9, 770302. Doi: 10.3389/fbioe.2021.770302

• Rudiño, E., Quintero, V., Juárez, V. (2022). El Protein Data Bank (PDB) y su impacto en la investigación científica. *Alianzas y Tendencias BUAP.* 2022;7(25). Pp.21-35.

<https://www.aytbuap.mx/aytbuap-725/el-protein-data-bank-pdb-y-su-impacto-en-la-investigacion-cientifica>

• Rozemuller, E., Kropveld, A., Kreyveld, E., Leppers, F., Scheidel, K., Sloopweg, P., & Tilanus, M. (2022). P53 Homo sapiens. *National Library of Medicine.* 25 (2). Pp.109-116. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/BAC16799.1>

• Salzberg, S., Puiu, D., Sherman, R., Shumante, A., Perte, M., Varabyou, A., & Zimin, A. (2022). P21 (RAC1) activated kinase 4 Homo sapiens. *National Library of Medicine.* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=10298>

• Boxu, R., Marabeth X., Cuiliu, Z., Ma, M., & Shanmugam, L. (2021). Resveratrol for cancer therapy: Challenges and future perspectives. *Cancer Letters.* 515. Pp. 63-72. •Doi: 10.1016/j.canlet.2021.05.001.

• Ko, J., Sethi, G., Um, J., Shanmugam, M., Arfuso, F., Kumar, A., Bishayee, A., & Ahn, K. (2017). The Role of Resveratrol in Cancer Therapy. *Int J Mol Sci.* 18(12), 2589. <https://doi.org/10.3390/ijms18122589>

• Wojciech, L. (2009). Role of oxycodone and oxycodone/naloxone in cancer pain management. *Pharmacological reports.* 62 (4). Pp. 578-591.

[https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(10\)70316-9](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(10)70316-9)

- Hernández, J., Quinto, P., Aguilar, J., Barbosa, G., Razo, W., y Toledo, M. (2019). Secado solar de chicozapote (*Manilkara zapota*). Instituto Politécnico Nacional. Científica. 23(2). Pp. 135-139.
- Kuklinski, C. (2003). Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Ediciones Omega.
<https://www.redalyc.org/journal/614/61459623006/html/>
- Brown, T. (2014). Chemdraw. The science teacher. Tomo 81, No. 2.
- Mackay, J., Jemal, A., Lee N., Parkin, D., (2006). El Atlas del Cáncer. Atlanta: Sociedad Americana del Cáncer.
https://canceratlas.cancer.org/wpcontent/uploads/2019/10/ACS_CA3_Book.pdf
- Sasteban T. *Cromatografía de líquidos-espectrometría de masas*. [Tesis doctoral] Xarxa; 2003.
- Rojas G. *Ludificación de docking molecular para acelerar el diseño de fármacos*. [Tesis para obtener el título de Ingeniero civil informático]. Chile: Universidad De Concepción; 2018.
- Faicán, KV. Intriago, NL. (2019). *Propuesta de aprovechamiento de la semilla de chicozapote (Manilkara zapota) en la culinaria*. [Tesis para obtener el título de licenciado en gastronomía, Universidad de Guayaquil].
<http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/47007>
- Villegas D. (2016). *Usos del chicozapote (Manilkara zapota) en México*. [Tesis para obtener el título de Químico farmacéutico Industrial, Instituto politécnico Nacional].
<https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/25168/VILLEGAS%20G%C3%93MEZ%20DANIEL%20ARTURO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Aristizábal, H. (2015). *Técnica de simulación por dinámica molecular para la nano identificación y nano rayado de películas delgadas* [Tesis para obtener el título de Magister en ciencias-físicas, Manizales, Universidad de Colombia].
<https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/59478/75090030.2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Basto López, GM. (2019). *Efecto antioxidante y antiproliferativo de los extractos de Manilkara zapota (Chicozapote) y Nephelium lappaceum (Rambután)*. [Tesis para obtener el título de licenciado en químico farmacéutico biólogo, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco]. Páginas de internet.
- Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer. (2023). INEGI. [Archivo PDF].
https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2022/EAP_CANCER22.pdf
- Cromatografía líquida de alta eficiencia. (2023). [Archivo PDF].
https://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_liquida_de_alta_eficacia.pdf

- Cáncer. (3 de febrero, 2022). Organización mundial de la salud.
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- Genética del cáncer. (17 de agosto, 2022) Instituto nacional del cáncer.
<https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/genetica>
- Argueta A, Gallardo MC. (2009). Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana: Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana.
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=chicozapote>
- Cáncer de próstata-Versión para pacientes. (s.f.). Instituto Nacional del Cáncer. Cancer.gov.
<https://www.cancer.gov/espanol/tipos/prostata>
- Pruebas y exámenes para el cáncer de próstata. (s.f.). MedlinePlus.
<https://medlineplus.gov/spanish/prostatecancerscreening.html>
- Día mundial contra el cáncer. (31 de marzo, 2023). Gobierno de México.
<https://www.gob.mx/insabi/articulos/dia-mundial-contra-el-cancer-de-colon-31-de-marzo?idiom=es>
- Martínez, R. (12 de abril, 2016). Síntomas del cáncer colorrectal, el más frecuente del aparato digestivo.
<https://www.topdoctors.es/articulos-medicos/sintomas-del-cancer-colorrectal-el-mas-frecuente-del-aparato-digestivo#>
- Gen P53. (s.f). Instituto Nacional del Cáncer.
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionariocancer/def/gen-p53>
- Diada (Genética). (03 de junio, 2017). Glosarios especializados.
<https://glosarios.servidor-alicante.com/genetica/diada>.
- El cáncer de mama se convierte en el más frecuente a nivel mundial. (4 de febrero,2021). CódigoF.
<https://codigof.mx/el-cancer-de-mama-se-convierte-en-el-mas-frecuente-a-nivelmundial/>
- Cáncer. (3 de febrero, 2022). Organización mundial de la salud.
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- Instituto Nacional del Cáncer. (s.f.). Carcinoma.
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionariocancer/def/carcinoma>.