



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BÁSICAS



TESIS

**EVALUACIÓN ANTICANCERÍGENA DE LOS DERIVADOS DE CHALCONAS EN LÍNEAS
CELULARES DE CÁNCER**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN QUÍMICA APLICADA**

**PRESENTA
Q.F.B. JOSÉ ÁNGEL GONZÁLEZ DÍAZ**

**BAJO LA DIRECCIÓN DE
DR. JOSÉ RUBÉN GARCÍA SÁNCHEZ (IPN-ESM)
DR. JOSÉ ARNOLD GONZÁLEZ GARRIDO (UJAT-DACB)**

Cunduacán, Tab. Junio 2025

Declaración de Autoría y Originalidad

En la Ciudad de Cunduacán, el día 28 del mes mayo del año 2025, el que suscribe José Ángel González Díaz alumna(o) del Programa de Maestría en Ciencias en Química Aplicada con número de matrícula 192A27007, adscrito a la División Académica de Ciencias Básicas, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autor(a) (es) de la Tesis presentada para la obtención del (título, diploma o grado según sea el caso) título en Maestro en Ciencias y titulada EVALUACION ANTICANCERIGENA DE LOS DERIVADOS DE CHALCONAS EN LINEAS CELULARES DE CANCER dirigida por el Dr. José Arnold González Garrido y el Dr. Jose Rubén García Sánchez.

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

Cunduacán, Tabasco a 28 de mayo 2025.



Q.F.B. José Ángel González Díaz

Nombre y Firma



UJAT

UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

“ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE”



División
Académica
de Ciencias
Básicas



2024
Felipe Carrillo
PUERTO
RECONOCIMIENTO DEL GOBIERNO DEL ESTADO DE TABASCO
GOBIERNO DE MÉXICO

DIRECCIÓN

14 de noviembre de 2024

Q.F.B. JOSÉ ÁNGEL GONZÁLEZ DÍAZ
PASANTE DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN QUÍMICA APLICADA
PRESENTE

Por medio del presente y de la manera más atenta, me dirijo a Usted para hacer de su conocimiento que proceda a la impresión del trabajo titulado **“EVALUACIÓN ANTICANCERÍGENA DE LOS DERIVADOS DE CHALCONAS EN LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER”**, en virtud de que reúne los requisitos para el EXAMEN PROFESIONAL y obtener el grado de Maestro en Ciencias en Química Aplicada.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE

DRA. HERMICENDA PÉREZ VIDAL
DIRECTORA



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS BÁSICAS

C.c.p.- Archivo

DIR'DRA.HPV/JP'DRA.EAM/jkal**JA

Km.1 Carretera Cunduacán-Jalpa de Méndez, A.P. 24, C.P. 86690, Cunduacán, Tab., México.
Tel/Fax: (993) 3581500 Ext. 6702,6701 E-Mail: direccion.dacb@ujat.mx

www.ujat.mx

Carta de Cesión de Derechos

Cunduacán, Tabasco a 28 de mayo de 2025.

Por medio de la presente manifestamos haber colaborado como AUTORES en la producción, creación y/o realización de la obra denominada **EVALUACION ANTICANCERIGENA DE DERIVADOS DE CHALCONAS EN LINEAS CELULARES DE CANCER.**

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



Q.F.B. José Ángel González Díaz
EGRESADO



Dr. José Arnold González Garrido
DIRECTOR



Dr. Jose Rubén García Sánchez
CODIRECTOR

TESTIGOS



Eric Jaziel Medrano Sánchez



Sheyla Mariana Brito Valencia

EVALUACIÓN ANTICANCERÍGENA DE LOS DERIVADOS DE CHALCONAS EN LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER

ORIGINALITY REPORT

15%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	www-optica.inaoep.mx Internet	510 words — 3%
2	gacetajuchiman.ujat.mx Internet	301 words — 2%
3	repositorioinstitucional.uabc.mx Internet	92 words — 1%
4	www.coursehero.com Internet	70 words — < 1%
5	www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar Internet	70 words — < 1%
6	hdl.handle.net Internet	64 words — < 1%
7	www.scielo.org.mx Internet	64 words — < 1%
8	www.cancerquest.org Internet	63 words — < 1%
9	hmong.es Internet	62 words — < 1%

10 "Polímeros aromáticos sililados conteniendo unidades donadoras yceptoras de electrones como materiales con potencial aplicación en dispositivos TADF-OLED", Pontificia Universidad Catolica de Chile, 2023

Crossref Posted Content

11 tesis.ipn.mx 53 words — < 1%
Internet

12 pdfs.semanticscholar.org 48 words — < 1%
Internet

13 repositorio.unapikitos.edu.pe 46 words — < 1%
Internet

14 Guillermina Yazmín Arellano Salazar. "Nuevos derivados de la deshidroepiandrosterona como inhibidores de la enzima 5 α -reductasa y/o antagonistas del receptor androgénico", Universidad Nacional Autonoma de Mexico, 2013

Crossref

15 archivos.ujat.mx 42 words — < 1%
Internet

16 es.slideshare.net 42 words — < 1%
Internet

17 Silva, Artur Manuel Soares da. "Sintese e caracterizacao Estrutural De Flavonoides e Compostos Afins", Universidade de Aveiro (Portugal), 2021

ProQuest

18 es.wikipedia.org 40 words — < 1%
Internet

19 oldri.ues.edu.sv

40 words — < 1%

20 prezi.com
Internet

40 words — < 1%

21 mx.123dok.com
Internet

39 words — < 1%

22 guiasalud.co
Internet

38 words — < 1%

23 eprints.ucm.es
Internet

35 words — < 1%

24 sedici.unlp.edu.ar
Internet

35 words — < 1%

25 dokumen.pub
Internet

32 words — < 1%

26 patents.google.com
Internet

31 words — < 1%

27 www.biomedicina.uabjo.mx
Internet

29 words — < 1%

28 www.slideshare.net
Internet

27 words — < 1%

29 Badiola Benito, Nahuai. "Estudio de los mecanismos moleculares implicados en la muerte apoptótica en un modelo de isquemia in vitro", Bellaterra : Universitat Autònoma de Barcelona,, 2009
Internet

26 words — < 1%

30	Chunlin Zhuang, Wen Zhang, Chunquan Sheng, Wannian Zhang, Chengguo Xing, Zhenyuan Miao. "Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry", Chemical Reviews, 2017 Crossref	26 words — < 1%
31	medicinavirtual.uas.edu.mx Internet	26 words — < 1%
32	repositorio.untumbes.edu.pe Internet	26 words — < 1%
33	repositorio.uts.edu.co:8080 Internet	24 words — < 1%
34	vdocuments.com.br Internet	24 words — < 1%
35	manglar.uninorte.edu.co Internet	23 words — < 1%
36	aldf.gob.mx Internet	22 words — < 1%
37	morabanc.webfg.com Internet	22 words — < 1%
38	docslib.org Internet	20 words — < 1%
39	repositorio.unab.cl Internet	20 words — < 1%
40	scielo.isciii.es Internet	20 words — < 1%

41	Internet	20 words — < 1%
42	www.thieme-connect.de Internet	20 words — < 1%
43	www.unab.edu.co Internet	20 words — < 1%

EXCLUDE QUOTES ON
EXCLUDE BIBLIOGRAPHY ON

EXCLUDE SOURCES < 20 WORDS
EXCLUDE MATCHES < 10 WORDS

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mis hijos y esposa, por ser los pilares más importantes en mi vida, que gracias a su apoyo, confianza y amor pude concluir exitosamente esta etapa. A mi madre, por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, además, por su amor y sacrificio todos estos años. A mi padre, por motivarme para alcanzar mis anhelos, sé que, a pesar de nuestra distancia física, estás conmigo. A mis hermanas, quienes han puesto toda su confianza para lograr un objetivo más en mi vida. Gracias por ayudarme a concluir mis objetivos profesionales. Este logro es de todos ustedes.

Los amo, muchas gracias.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi gratitud a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

De manera especial al Dr. José Arnold González Garrido, por haberme guiado, no solo en la elaboración de este trabajo de titulación, sino a lo largo de mi carrera universitaria y haberme brindado el apoyo para desarrollarme profesionalmente y cultivar mis valores.

Al Dr. Jose Ruben Garcia Sanchez y a la Dra. Ivonne Maria Olivares Corichi, por abrirme las puertas de su laboratorio, por ayudarme a superar las dificultades y por su gran apoyo para la conclusión de este trabajo.

También, quiero agradecer a todas aquellas personas que han puesto su granito de arena para llevar a cabo la realización de este trabajo con éxito, en especial a aquellos que nos abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos.

ÍNDICE

RESUMEN.....	I
ABSTRACT	II
INTRODUCCIÓN.....	1
MARCO TEÓRICO.....	3
CÁNCER.....	3
DEFINICIÓN	3
EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER	3
FACTORES DE RIESGO DE CÁNCER	5
MECANISMOS DE REPARACIÓN Y CICLO CELULAR	6
APOPTOSIS	8
TERAPIA FARMACOLÓGICA CONTRA EL CÁNCER	9
CHALCONAS	10
GENERALIDADES.....	10
ORIGEN DE LAS CHALCONAS	11
SÍNTESIS DE CHALCONAS VÍA CLAISEN-SMICHDT	12
ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE LAS CHALCONAS	13
LAS CHALCONAS Y SU MECANISMO DE ACCIÓN	15
ANTECEDENTES	16
SUSTITUCIONES DEL ANILLO AROMÁTICO: NITRÓGENO.....	16
SUSTITUCIONES DENTRO DEL ANILLO AROMÁTICO: FLÚOR	17
SUSTITUCIONES DENTRO DEL ANILLO AROMÁTICO: METOXILOS.....	18
BIOISOTERISMO EN CHALCONAS.....	18
LÍNEAS CELULARES	19
JUSTIFICACIÓN.....	21
HIPÓTESIS	22
OBJETIVOS	23
GENERAL.....	23
ESPECÍFICOS.....	23
METODOLOGÍA.....	24
SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE LOS DERIVADOS DE CHALCONAS.....	24
SÍNTESIS DE CHALCONA 1	25
SÍNTESIS DE CHALCONA 2	26
SÍNTESIS DE CHALCONA 3	26
CRECIMIENTO DE LÍNEAS CELULARES	27
CONTEO CELULAR	27
TRATAMIENTO CON LAS CHALCONAS 1, 2 Y 3.....	28
ENSAYO DE VIABILIDAD CELULAR POR MTT.....	29
DETERMINACIÓN DEL MECANISMO DE MUERTE CELULAR	29

EXTRACCIÓN DE ADN	29
ELECTROFORESIS EN AGAROSA AL 2%	30
EXTRACCIÓN DE PROTEÍNAS, SDS-PAGE Y ANÁLISIS DE WESTERN BLOT	30
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	31
RESULTADOS	32
CHALCONA 1, 2 Y 3	32
RMN- ¹ H Y RMN- ¹³ C DE LAS CHALCONAS 1, 2 Y 3.	32
HPLC-MS DE LAS CHALCONAS 1, 2 Y 3	35
EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIPROLIFERATIVO Y CÁLCULO DE LA CI ₅₀ DE LAS CHALCONAS EN LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER	35
MCF-7	35
MDA-MB-231	37
SiHa	38
CINÉTICA DE TIEMPO DE LA ACTIVIDAD ANTIPROLIFERATIVA DE LOS DERIVADOS DE CHALCONAS	39
MCF-7	40
MDA-MB-231	41
SiHa	43
EVALUACIÓN DE LAS CHALCONAS 1, 2 Y 3 EN UNA LÍNEA CELULAR NO CANCERÍGENA	44
MCF-10 A	44
EVALUACIÓN DE LA INDUCCIÓN DE APOPTOSIS DE LAS CHALCONAS 1, 2 Y 3. ..	46
FRAGMENTACIÓN DE ADN	46
WESTERN BLOT	48
DISCUSIÓN	50
CONCLUSIÓN	57
REFERENCIAS	58
ANEXOS	66
ANEXO 1	66
ANEXO 2	69
ANEXO 3	72
ANEXO 4	75
ANEXO 5	78
ANEXO 6	81
ANEXO 7	82
ANEXO 8	83
ANEXO 9	83

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. INCIDENCIA DE CASOS DE CÁNCER (2018) EN TODO EL MUNDO, AMBOS SEXOS, TODAS LAS EDADES.	4
FIGURA 2. PREVALENCIA (2017-2018) DE LOS PRINCIPALES TIPOS DE CÁNCER QUE AFECTAN A LAS MUJERES EN MÉXICO, AMÉRICA LATINA Y CARIBE.....	5
FIGURA 3. ESQUEMA DE LAS ETAPAS DEL CICLO CELULAR: G1, S, G2 Y M.	7
FIGURA 4. ESTRUCTURA BASE DE LAS CHALCONAS.	10
FIGURA 5. CHALCONAS AISLADAS DE FUENTES NATURALES.....	11
FIGURA 6. SÍNTESIS DE CHALCONAS VÍA CLAISEN SMICHTD.....	12
FIGURA 7. SÍNTESIS DE LOS DERIVADOS DE CHALCONAS, MEDIANTE CONDENSACIÓN DE CLAISEN-SCHMITD.	24
FIGURA 8. CCF DE LAS CHALCONAS 1, 2 Y 3.	32
FIGURA 9. ESTRUCTURA DE LA CHALCONA 1.....	33
FIGURA 10. ESTRUCTURA DE LA CHALCONA 2.....	34
FIGURA 11. ESTRUCTURA DE LA CHALCONA 3.	34
FIGURA 12. CURVA CONCENTRACIÓN - RESPUESTA DE LAS CHALCONA 1, 2 Y 3 EN LA LÍNEA CELULAR MCF-7.	36
FIGURA 13. CURVA CONCENTRACIÓN - RESPUESTA DE LAS CHALCONA 1, 2 Y 3 EN LA LÍNEA CELULAR MDA-MB-231.....	37
FIGURA 14. CURVA CONCENTRACIÓN - RESPUESTA DE LAS CHALCONA 1, 2 Y 3 EN LA LÍNEA CELULAR SIHA.....	38
FIGURA 15. CURVA TIEMPO - RESPUESTA DE LAS CHALCONA 1, 2 Y 3 EN LA LÍNEA CELULAR MCF-7.	40
FIGURA 16. CURVA TIEMPO - RESPUESTA DE LAS CHALCONA 1, 2 Y 3 EN LA LÍNEA CELULAR MDA-MB-231.....	42
FIGURA 17. CURVA TIEMPO - RESPUESTA DE LAS CHALCONA 1, 2 Y 3 EN LA LÍNEA CELULAR SIHA.....	43
FIGURA 18. CURVA CONCENTRACIÓN - RESPUESTA DE LAS CHALCONA 1, 2 Y 3 EN LA LÍNEA CELULAR MCF-10A.....	45
FIGURA 19. IMÁGENES DE LA LÍNEA CELULAR MDA-MB-231 CON Y SIN TRATAMIENTO, FOTOGRAFÍAS TOMADAS UN MICROSCOPIO INVERTIDO A 25 X. .	46
FIGURA 20. FRAGMENTACION DEL ADN.	47
FIGURA 21. WESTERN BLOT DE LA PROTEÍNA DR4.	48
FIGURA 22. WESTERN BLOR DE LA PROTEÍNA DR5.....	49

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. CONCENTRACIONES μM DE CHALCONAS PARA TRATAMIENTO EN LAS LÍNEAS CELULARES.....	28
TABLA 2. RENDIMIENTO Y PUREZA DE LAS MOLÉCULAS DE CHALCONAS SINTETIZADAS.....	35
TABLA 3. EFECTO ANTIPROLIFERATIVO DE LAS CHALCONAS 1, 2 Y 3 EN LAS LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER A LAS 72 H DE TRATAMIENTO.....	39
TABLA 4. CINÉTICA DE TIEMPOS DE LAS CHALCONAS 1, 2 Y 3 EN LA LÍNEA CELULAR MCF-7 DURANTE TRATAMIENTOS DE 0, 24, 48 Y 72 HORAS.....	41
TABLA 5. CINÉTICA DE TIEMPO DE LAS CHALCONAS 1, 2 Y 3 EN LA LÍNEA CELULAR MDA-MB-231 DURANTE TRATAMIENTOS DE 0, 24, 48 Y 72 HORAS.....	42
TABLA 6. CINÉTICA POR TIEMPO DE LAS CHALCONAS 1, 2 Y 3 EN LA LÍNEA CELULAR SIHA DURANTE 0, 24, 48 Y 72 H DE TRATAMIENTO.	44
TABLA 7. EFECTO ANTIPROLIFERATIVO DE LAS CHALCONAS 1, 2 Y 3 EN LA LÍNEA CELULAR NO CANCERÍGENA MCF-10A A LAS 72 H DE TRATAMIENTO.....	45

EVALUACIÓN ANTICANCERÍGENA DE LOS DERIVADOS DE CHALCONAS EN LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER

RESUMEN

El cáncer es un proceso de crecimiento y diseminación incontrolada de células, originado por la transformación de células normales en tumorales. Es la segunda causa de muerte a nivel mundial. En las mujeres, los cánceres más comunes son el de mama (30.8%) seguido por el de cérvix (8.1%). Debido a las elevadas tasas de incidencia y a la limitada efectividad de los tratamientos actuales, que presentan baja selectividad celular y efectos secundarios adversos, la búsqueda de nuevos tratamientos es una prioridad. Las moléculas tipo chalconas han demostrado actividades antiinflamatorias, antimicrobianas, antioxidantes y anticancerígenas. Las modificaciones en estas moléculas han mejorado su actividad biológica y selectividad en células cancerígenas. En este estudio, se sintetizaron tres derivados de chalconas mediante la condensación de Claisen-Schmidt y se evaluó su actividad anticancerígena en líneas celulares de cáncer de mama (MDA-MB-231 y MCF-7), cáncer de cérvix (SiHa) y una línea celular no cancerígena (MCF-10A). El derivado de chalcona con mejor actividad anticancerígena, a través de la inducción de apoptosis por la vía extrínseca, fue la chalcona sustituida con flúor sobre la línea celular MDA-MB-231.

Palabras claves: *cáncer, chalconas, viabilidad celular, apoptosis.*

ANTICANCER EVALUATION OF CHALCONE DERIVATIVES IN CANCER CELL LINES

ABSTRACT

Cancer is a process of uncontrolled cell growth and spread, caused by the transformation of normal cells into tumours. It is the second leading cause of death worldwide. In women, the most common cancers are breast cancer (30.8%) followed by cervical cancer (8.1%). Due to the high incidence rates and the limited effectiveness of current treatments, which have low cell selectivity and adverse side effects, the search for new treatments is a priority. Chalcone-like molecules have demonstrated anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant and anticancer activities. Modifications in these molecules have improved their biological activity and selectivity in cancer cells. In this study, three chalcone derivatives were synthesised by Claisen-Schmidt condensation and evaluated for their anticancer activity in breast cancer cell lines (MDA-MB-231 and MCF-7), cervical cancer (SiHa) and a non-cancer cell line (MCF-10A). The chalcone derivative with the best anticancer activity, through the induction of apoptosis via the extrinsic pathway, was fluorine-substituted chalcone on the MDA-MB-231 cell line.

Keywords: cancer, chalcones, cell capacity, apoptosis.

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) menciona que el cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo, habiendo ocasionado 8.8 millones de defunciones en 2015 (OMS, 2017). En México, es la tercera causa de muerte después de la diabetes y las enfermedades cardiovasculares, siendo responsable del 14.5% de las muertes en mujeres. En México, América latina y el caribe, los tipos de cáncer más comunes en la población femenina son el de mama (30.8%) y el de cérvix (8.1%) (International Agency for Research on Cancer, 2018).

Una de las características primordiales del cáncer es la señalización proliferativa, que permite a las células normales transformarse en cancerígenas y multiplicarse sin control (Racca et al., 2018). Las células cancerígenas proliferan de manera anormal, evadiendo el control celular y aumentando las mutaciones en el ADN (Mahapatra et al., 2015). Esto induce la resistencia a la muerte celular (apoptosis) al evadir los mecanismos de reparación, inhibición así la apoptosis (Mohamed et al., 2018).

El cáncer se define como un proceso de crecimiento y diseminación descontrolado de las células que puede afectar a cualquier tejido. Las células mutan y se acumulan hasta formar un tumor, pudiendo infiltrar otros tejidos mediante angiogénesis y metástasis (Hanahan & Weinberg, 2011; Mullane & Van Allen, 2016), características que actualmente objeto de múltiples investigaciones. Debido a la baja selectividad celular y los efectos secundarios de los tratamientos existentes, la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas es continua. En este contexto, las moléculas tipo chalconas han mostrado su potente actividad biológica.

Las chalconas, precursoras de la biosíntesis de los flavonoides, son estructuras con un esqueleto C6-C3-C6 en forma de anillos aromáticos unidos por un sistema carbonilo α,β -insaturado que presenta un amplio espectro de actividades biológicas. Se ha demostrado que las chalconas presentan actividad anticancerígena y capacidad para activar la apoptosis (Bortolotto et al., 2017). En algunos casos. También pueden dirigirse al ADN causando genotoxicidad (Véras et al., 2020).

Diversos estudios describen que el sistema carbonilo α,β -insaturado de las chalconas es el factor más importante que determina su actividad biológica. Sin embargo, esta actividad puede ser incrementada (Bazzaro et al., 2011; Mai et al., 2014). Por ello, con el objetivo de potenciar la bioactividad de las chalconas, se han realizado diversas modificaciones en su estructura para encontrar nuevos blancos moleculares más eficaces y selectivos (Burmaoglu et al., 2017; Karthikeyan et al., 2014; Wang et al., 2016)

Debido a las elevadas tasas de casos de cáncer y a limitada efectividad de los tratamientos existentes, que presentan baja selectividad celular y efectos secundarios adversos, se continúa la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas. Las moléculas tipo chalconas han mostrado tener una actividad biológica prometedora. En este estudio, se evaluó el efecto anticancerígeno de algunos derivados de chalconas en líneas celulares de cáncer de mama (MCF-7 y MDA-MB-231), cáncer de cérvix (SIHA) y una línea celular no cancerígena (MCF-10A), así como su posible mecanismo de acción.

MARCO TEÓRICO

CÁNCER

DEFINICIÓN

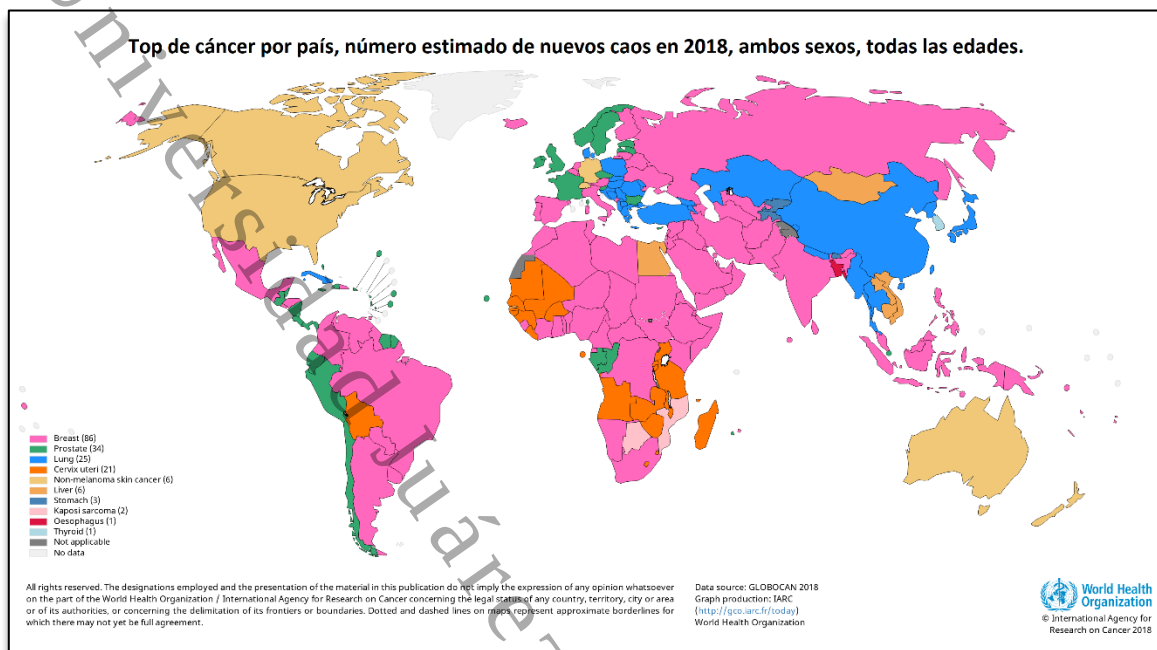
De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) el cáncer es un proceso de crecimiento y diseminación incontrolada de células. Este se produce por la transformación de células normales en células tumorales a través de un proceso de varias etapas, que generalmente incluye la progresión de una lesión precancerosa a un tumor maligno. Además, el cáncer tiene la capacidad de invadir el tejido circundante y puede aparecer en cualquier lugar del cuerpo mediante metástasis (OMS, 2017).

EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER

Según estadísticas de la OMS, el cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo, habiendo ocasionado 8,8 millones de defunciones en 2015. En el 2018, la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) indicó que, en las mujeres, el cáncer de mama es el tipo de cáncer con mayor número de nuevos casos en 86 países, incluyendo México (Figura 1) (OMS, 2017). En este contexto, la IARC describe que, en México, América latina y el caribe, el cáncer de mama y el cáncer de cérvix ocupan los dos primeros lugares en el ranking de los principales tipos de cáncer que afectan a las mujeres (Figura 2).

Figura 1.

Incidencia de casos de cáncer (2018) en todo el mundo, ambos sexos, todas las edades.

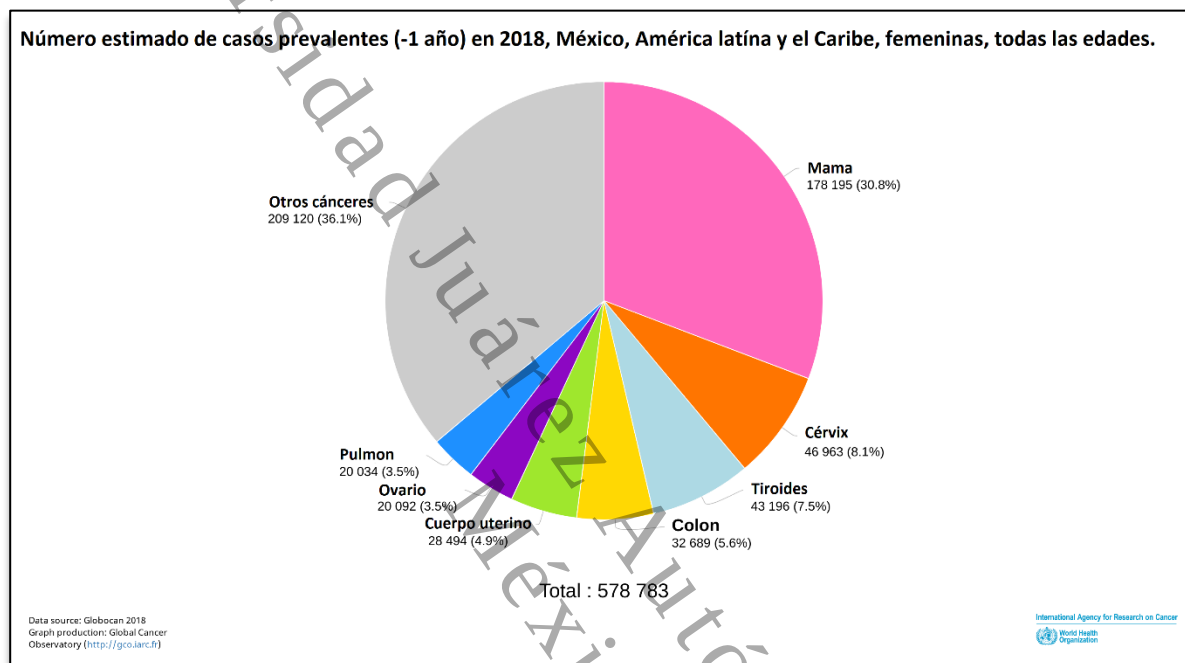


Fuente: reproducido y modificado de “cáncer hoy,” por agencia internacional para la búsqueda del cáncer, organización mundial de la salud, 2020 (<https://gco.iarc.fr/today/home>).

La mortalidad por cáncer en México ha aumentado en el número de casos. Hasta 2015, los estados con mayor mortalidad por cáncer de mama eran: Ciudad de México (16%), Sonora (16%), Nuevo León (15,2%), Coahuila (14.2%) y Chihuahua (14%). En cuanto al cáncer de cérvix los estados con mayor mortalidad eran: Colima (10,3%), Veracruz (8,8%), Chiapas (8,7%) Yucatán (8.5%) y Nayarit-Morelos-Oaxaca (8.1%) (Reynoso-Noverón et al., 2023).

Figura 2.

Prevalencia (2017-2018) de los principales tipos de cáncer que afectan a las mujeres en México, América Latina y Caribe.



Fuente: reproducido y modificado de “cáncer hoy,” por agencia internacional para la búsqueda del cáncer, organización mundial de la salud, 2020 (<https://gco.iarc.fr/today/home>).

FACTORES DE RIESGO DE CÁNCER

Los principales factores de riesgo de cáncer en el mundo se clasifican generalmente en tres categorías. Primero, los factores asociados al estilo de vida, como dietas poco saludables, consumo de tabaco, consumo excesivo de alcohol y la poca actividad física, además de enfermedades no transmisibles (Sanz-Barbero et al., 2014). En segundo lugar, la exposición a factores biológicos, como algunos virus (virus de la hepatitis B y de la hepatitis C y ciertos papilomavirus humanos, que

aumentan el riesgo de cáncer de hígado y cáncer de cuello uterino). En tercer lugar, la exposición a factores ambientales, como radiación ultravioleta y contaminación. Además, la edad es otro factor que incrementa la incidencia de esta enfermedad, debido a la acumulación de factores de riesgo y la disminución de la eficacia de los mecanismos de reparación celular (OMS, 2007, 2017).

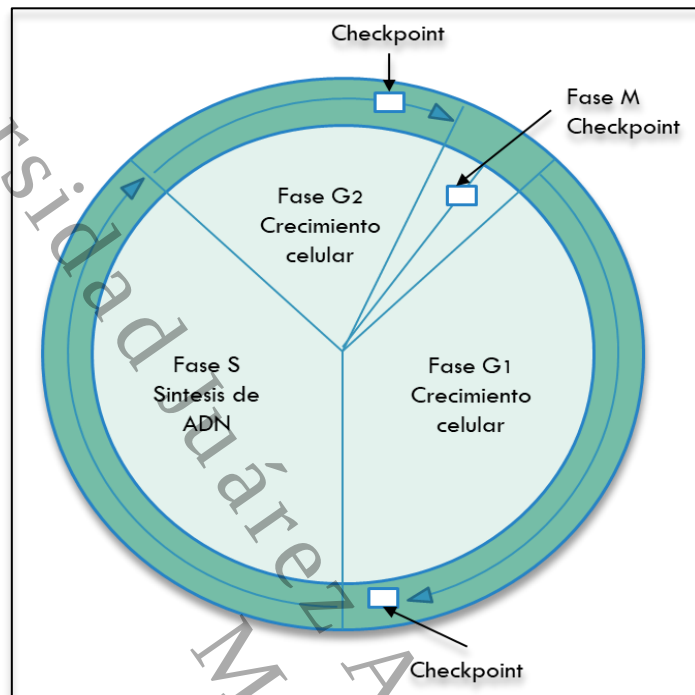
MECANISMOS DE REPARACIÓN Y CICLO CELULAR

El ciclo celular es un conjunto ordenado de procesos por los que transcurre la vida de una célula, cuyo objetivo es el crecimiento celular y la división en dos células hijas, reiniciando así el ciclo. Las etapas del ciclo celular son G0, G1, S, G2 y mitosis, cada una con un papel específico (Figura 3).

En células normales, se distinguen las siguientes fases del ciclo celular: G0, G1, S, G2 y mitosis. En la fase G0 o de reposo, las células no se dividen, pero conservan la capacidad de reiniciar el ciclo para repoblar un tejido. La fase G1 (Gap 1 o de pre-síntesis) es la etapa más larga y variable, durante la cual las células producen ARN y proteínas, y crecen hasta alcanzar el tamaño óptimo. En la fase S (síntesis), se replica el ADN. La fase G2 (Gap 2 o de pos-síntesis) es una segunda etapa de crecimiento, donde el núcleo se prepara para la división celular que ocurre en la fase M o de mitosis. En la fase M, todos los componentes celulares se separan en dos partes para formar dos células nuevas e independientes. La mitosis se divide en profase, metafase, anafase y telofase; durante estas etapas, el ADN se compacta, formando cromosomas que se organizan y segregan para formar los núcleos de las células hijas, reiniciando así el ciclo celular (Meza-Junco et al., 2006).

Figura 3.

Esquema de las etapas del ciclo celular: G1, S, G2 y M.



Nota: G=intervalo o gap, S=síntesis M=mitosis. Fuente: elaboración propia.

Durante el ciclo celular, se lleva a cabo una vigilancia del proceso mediante puntos de control (checkpoints), de los cuales se describen tres. El primero es el punto Start (checkpoint de G1/S), que se encuentra al final del periodo G1, donde la célula inicia la síntesis de ADN. En este punto, la célula verifica si las condiciones son apropiadas y si ha alcanzado el tamaño adecuado para entrar en división; de lo contrario, el ciclo se detiene. El segundo checkpoint (checkpoint de G2/M) se encuentra a la entrada de la mitosis, donde la célula detiene la progresión en el ciclo si la replicación está incompleta o si el ADN está dañado. El tercer punto de control se encuentra en la transición metafase-anafase y regula la salida de la mitosis (checkpoint de M/G1), deteniendo el paso a G1 si los cromosomas no se han “enganchado” correctamente al huso mitótico (Meza-Junco et al., 2006).

Cuando se localiza algún daño en cualquiera de las fases del ciclo celular, el checkpoint envía una señal para detener el ciclo hasta que se realice la reparación.

Si no es posible reparar el daño, la célula es marcada para su destrucción por apoptosis.

Si las células se aíslan de su medio son incapaces de recibir señales de supervivencia específicas del tejido, lo que puede llevar a la expresión de oncogenes (genes que codifican proteínas que favorecen la proliferación celular incontrolada) y/o a la inactivación de genes supresores de tumores (genes que codifican proteínas que frenan el ciclo celular). En el caso de las células tumorales, el ciclo celular y sus puntos de regulación se encuentran desregulados, activando oncogenes y apagando genes supresores de tumores. Un ejemplo de un gen supresor de tumor es el que codifica a la proteína p53, la cual regula el control sobre la proliferación celular; su inactivación origina un crecimiento celular incontrolado (Rodríguez Frago et al., 2004).

APOPTOSIS

La apoptosis tiene como función primordial programar la muerte de las células, lo cual ayuda a prevenir el desarrollo del cáncer en procesos biológicos normales. Es un proceso muy ordenado durante el cual la célula reduce su tamaño formando vesículas en su membrana plasmática. El genoma de la célula se descompone y se activan endonucleasas que fragmenta el ADN, originando el típico patrón en escalera en un gel de electroforesis (García et al., 2006; Pereyra-Vergara et al., 2020). Finalmente, los desechos son fagocitados por macrófagos. Sin embargo, si por cualquier circunstancia no ocurre apoptosis, estas células dañadas pueden sobrevivir y convertirse en células cancerosas desempeñando un papel crucial en la progresión del cáncer (Wong, 2011).

Durante la apoptosis existen dos fases: la fase de iniciación y la fase de ejecución. La fase de iniciación puede comenzar desde el espacio extracelular o intracelular. Algunos ejemplos de señales extracelulares que desencadenan la apoptosis incluyen la pérdida de factores de crecimiento, niveles bajos de oxígeno (hipoxia) y radiación. Las señales intracelulares incluyen daño en el ADN o mal funcionamiento

de los telómeros. La fase de iniciación desencadena la fase de ejecución, la cual implica la activación de enzimas especializadas (caspasas y otras enzimas) que tienen un papel importante en la muerte celular (Bender & Martinou, 2013). En la clínica, se suelen usar terapias farmacológicas con el objetivo de provocar la muerte celular.

TERAPIA FARMACOLÓGICA CONTRA EL CÁNCER

La farmacología del cáncer ha experimentado cambios drásticos en los últimos años, impulsados por una mejor comprensión de la biología del cáncer y el desarrollo continuo de medicamentos que se enfocan en las vulnerabilidades específicas de cada tipo de cáncer.

Los medicamentos contra el cáncer varían ampliamente en estructura y mecanismo de acción. Este grupo incluye agentes alquilantes, antimetabolitos análogos del ácido fólico, pirimidina y purina, productos naturales, hormonas y antagonistas de hormonas, así como anticuerpos específicos dirigidos a receptores extracelulares, cinasas intracelulares y controles de la vigilancia inmunitaria (Gilman, 2018).

Algunos estudios han señalado que ciertos tratamientos farmacológicos contra el cáncer están asociados con problemas cardiovasculares (Schlitt et al., 2014). La resistencia a los fármacos citotóxicos puede deberse a la expresión reducida de genes supresores de tumores y por la sobreexpresión de protooncogenes (Guo et al., 2014).

Actualmente, los medicamentos derivados de productos naturales han cobrado gran relevancia en la química medicinal. La síntesis de moléculas a partir de productos naturales es crucial para la generación de nuevos medicamentos más seguros y potentes. Por ello, se busca en la naturaleza moléculas con actividades biológicas significativas.

Actualmente, los medicamentos derivados de productos naturales han cobrado gran relevancia en la química medicinal. La síntesis de moléculas a partir de productos naturales es crucial para la generación de nuevos medicamentos más seguros y potentes. Por ello, se busca en la naturaleza moléculas con actividades biológicas significativas.

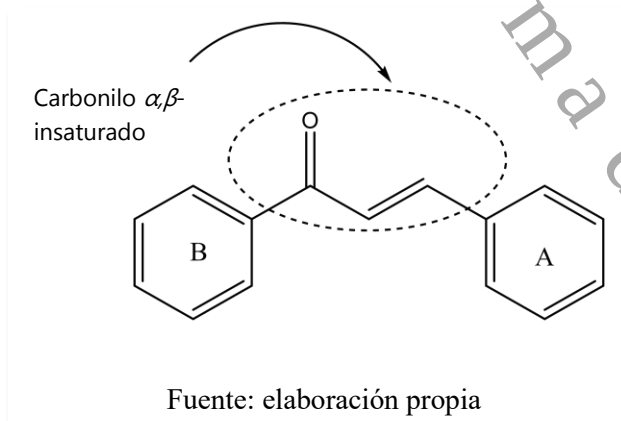
CHALCONAS

GENERALIDADES

Las chalconas son moléculas con 15 carbonos dispuestos en una configuración C6-C3-C6, consisten en dos anillos aromáticos (A y B) unidos por un sistema carbonilo α,β -insaturado, conocido como chalcona base (Figura 4). También se les denomina químicamente como bencilidenacetofenonas, estirilfenilcetonas, benzalacetofenonas, diarilpropenonas o 1,3-difenil-2-propen-1-onas según la IUPAC. Estas moléculas son importantes precursores en la biosíntesis de flavonoides (Cartaya & Reynaldo, 2001).

Figura 4.

Estructura base de las chalconas.



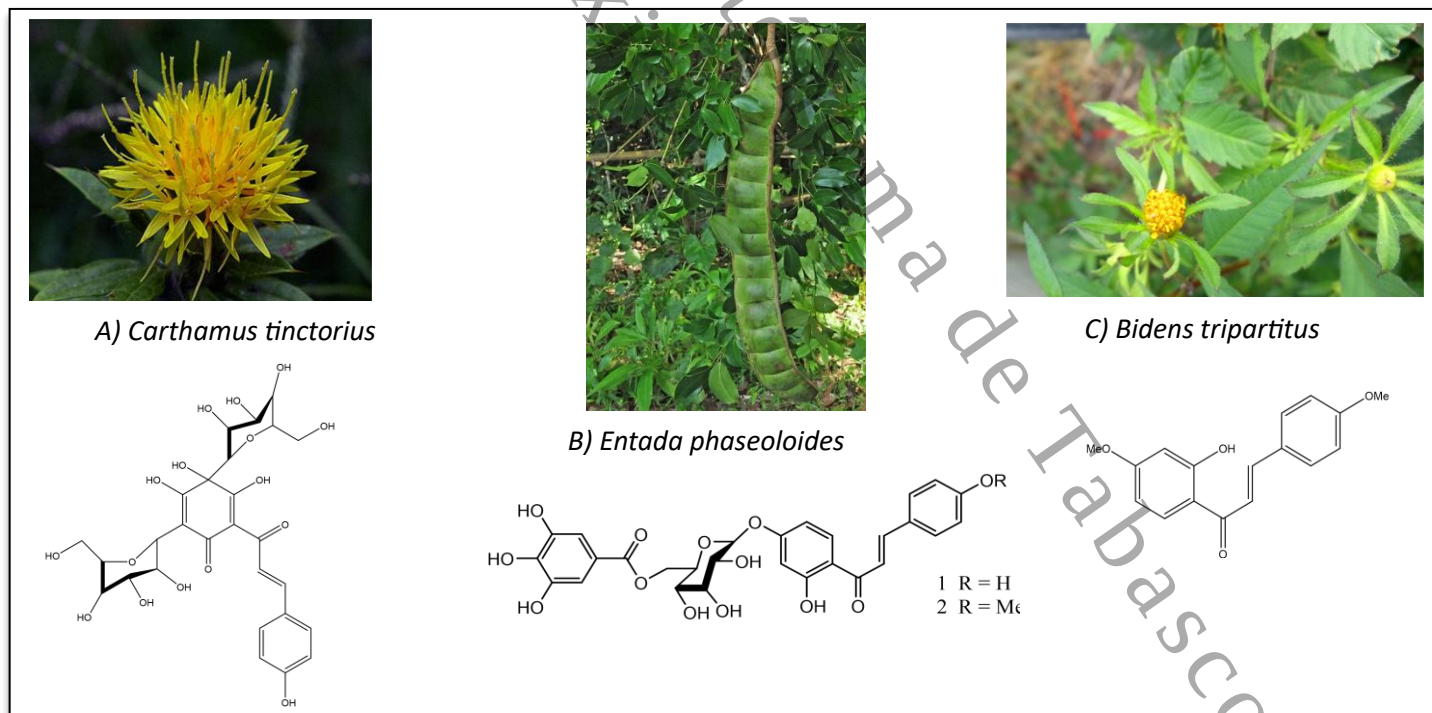
ORIGEN DE LAS CHALCONAS

De manera natural, las chalconas se originan a partir de la combinación de dos rutas del metabolismo secundario. En este proceso, la molécula inicial de cinnamoil-CoA utiliza tres moléculas de malonil-CoA para formar un policétido, que es catalizado por la enzima chalcona sintasa producir chalconas (M Dewick, 2002).

Las chalconas se pueden obtener de diversas plantas. Por ejemplo, *Carthamus tinctorius* [Figura 5 (A)], una planta oleaginosa anual de la familia de las asteráceas, ha sido estudiada en química medicinal por sus propiedades anticancerígena (Jiang et al., 2005). Asimismo, del tallo de la *Entada phaseoloides* [Figura 5, B)] se han aislado chalconas unidas a glucósidos (Zhao et al., 2011). Además, desde las hojas y el tallo de *Bidens tripartitus* [Figura 5, C)] se ha aislado una chalcona, caracterizada mediante RMN de ^{13}C y ^1H , así como de espectrometría de masas de alta resolución para determinar su peso molecular (Christensen et al., 1990).

Figura 5.

Chalconas aisladas de fuentes naturales.



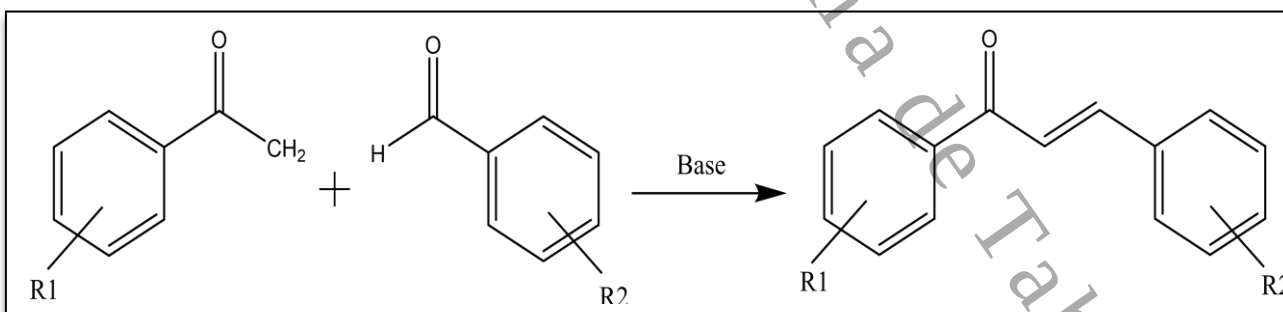
Nota: Imágenes obtenidas de internet.

SÍNTESIS DE CHALCONAS VÍA CLAISEN-SMICHDT

El método de Claisen-Smichdt consiste en la condensación de benzaldehído y acetofenona para formar un β -hidroxialdehído o β -hidroxicetona, seguido de deshidratación para dar una enona conjugada (Figura 6) (Torres-Sauret et al., 2017). Las chalconas se pueden generar mediante catálisis básica a partir del producto aldólico, utilizando un mecanismo enolato para obtener rendimientos de buenos a excelentes (60-90%) (J. Zhang et al., 2013; Zhuang et al., 2017). Algunos estudios indican que el sistema carbonilo α,β -insaturado del núcleo de las chalconas es determinante para su bioactividad (Bazzaro et al., 2011; Mai et al., 2014). Sin embargo, la introducción de sustituyentes en los anillos aromáticos de la molécula base (metoxilos, hidroxilos y los halógenos) influye en las propiedades biológicas de las chalconas (Burmaoglu et al., 2017; Karthikeyan et al., 2014; Wang et al., 2016). Además, el incremento de las potencialidades biológica también se atribuye a la sustitución de los anillos aromáticos por heterociclos como indol, pirano, tiofenos, piridina, pirazinas, entre otros (Karthikeyan et al., 2014).

Figura 6.

Síntesis de chalconas vía Claisen Smichtd.



Fuente: elaboración propia

ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE LAS CHALCONAS

El creciente interés en las chalconas puede explicarse por la abundancia de estudios que describen diversas actividades biológicas *in vitro*. Estas moléculas funcionan como antimicrobiano, antitubercular, antiinflamatoria, antihelmínticas, antioxidante, antivirales y de manera notable, presentan actividad anticancerígena en varias líneas celulares de cáncer humano.

- **Actividad antimicrobiana:** Algunos estudios han demostrado que las chalconas presentan halos de inhibición a concentraciones inhibitorias mínimas comparables con antibióticos comerciales frente a cepas de bacterias Gram positivas y Gram negativas, a través de la inhibición de enzimas ADN girasa e hidrofolato reductasa (Omar et al., 2020; Ponce et al., 2016).
- **Actividad antiinflamatoria:** Las chalconas muestran potencial inhibidor contra varios blancos terapéuticos involucrados en el proceso inflamatorio, como las isoenzimas ciclooxigenasa, lipooxigenasa, interleucinas, óxido nítrico sintasa y moléculas de adhesión celular (Mahapatra et al., 2017) (Boshra et al., 2020).
- **Actividad antihelmíntica:** (de Mello et al., 2018) indican que las chalconas presentan actividad en contra la leishmania, en particular contra la forma de amastigote. Aunque el mecanismo de acción no está bien definido, se cree que las chalconas alteran la estructura de las mitocondrias del parásito e inhiben su función. Estudios posteriores con licochalcona A identificaron a la fumarato reductasa como el objetivo específico en las mitocondrias del parásito. Esta enzima es responsable de convertir el fumarato en succinato, un producto metabólico esencial. Su inhibición conduce a una disminución de los niveles de succinato en el parásito, suprimiendo el metabolismo de la glucosa.
- **Actividad antioxidante:** Esta capacidad se basa en diferentes mecanismos como la eliminación de radicales libres, la donación de hidrógeno, el

enfriamiento de oxígeno singlete y la quelación de iones metálicos. Actualmente, las chalconas actúan como sustrato para radicales libres como superóxido e hidróxido (Janković et al., 2020).

- **Actividad antiviral:** En ausencia de una vacuna, las moléculas están diseñadas para atacar proteínas virales o factores del huésped necesarios para apoyar el ciclo de vida viral dentro de la célula huésped. Se ha demostrado que las chalconas inhiben diferentes aislados clínicos de VIH de manera dependiente de la dosis, utilizando células TZM-bl. Los resultados sugieren que las chalconas pueden ser valiosas como agentes profilácticos y terapéuticos contra el VIH, especialmente aquellas sustituidas con O-bencilo, identificadas prometedoras para futuras investigaciones (Cole et al., 2016).
- **Actividad anticancerígena:** Las chalconas, ya sea como componente principal, sustituyente o cadena lateral en diferentes compuestos biológicamente activos como los esteroides (Hou et al., 2020) y glucósidos (Manna et al., 2019) han demostrado ser importantes en tratamiento del cáncer. Estas moléculas son capaces de destruir células cancerígenas y se han descrito varios posibles mecanismos de acción. Dependiendo de las características de las chalconas, se presenta un potencial inhibidor contra varios blancos, como, ABCG2 / P-glicoproteína / BCRP, 5 α -reductasa, aromatasa, 17- β hidroxiesteroide deshidrogenasa, HDAC / Sirtuin-1, proteasoma, VEGF, VEGFR-2 quinasa, MMP-2/9, vías de señalización JAK / STAT, CDC25B, tubulina, cathepsina-K, topoisomerasa-II, Wnt, NF κ B, B-Raf y mTOR, entre otros. Se cree que la inhibición de estas enzimas o proteínas es clave en el manejo del cáncer (Mahapatra et al., 2015). Además, las chalconas son capaces de detener el ciclo celular y unirse a receptores de muerte DR-5 (Wan et al., 2014).

LAS CHALCONAS Y SU MECANISMO DE ACCIÓN

El mecanismo de acción de las chalconas está asociado a la muerte celular, un proceso fundamental en la homeostasis de cualquier organismo. Aunque la muerte celular se relaciona ampliamente con la apoptosis, es importante señalar que no es la única vía. Además de la apoptosis existen la autofagia, necrosis, oncosis, necroptosis, paraptosis, piroptosis, catástrofe mitótica y mitoptosis (De Toro, 2006). Dependiendo de la actividad biológica de la molécula, se determina el tipo de muerte celular. Las chalconas, han demostrado su eficacia en el cáncer, y se han propuesto diversos mecanismos de muerte celular.

Un estudio realizado por Bortolotto et al. (2017) (Bortolotto et al., 2017) demuestra que las chalconas pueden ser citotóxicas para las líneas celulares MCF-7. Al evaluar el posible mecanismo de acción, las chalconas provocaron arresto del ciclo celular en la fase G1 a través de la proteína ciclina D1, crucial para la progresión de la fase G1 a la S y un biomarcador importante en algunos tipos de cáncer, incluido el cáncer de mama, Además, indujeron apoptosis mediada por la ruta intrínseca debido a la inhibición de Bcl-2 y la inducción de Bax, provocando fragmentación del ADN durante la apoptosis.

E bloqueo de transición G2/M se asocia con un aumento de la apoptosis probablemente debido a la inducción de catástrofe mitótica (Wang et al., 2016). Asimismo, se ha descrito que las chalconas pueden inducir apoptosis a través de la vía extrínseca mediada por el receptor de muerte 5 (DR5) (Wan et al., 2014). También inducen apoptosis a través del receptor de membrana Ligando-Fas y Fas, incrementando la actividad de la caspasa 3, 8 y 9 (Liao et al., 2019).

Otros reportes indican que las chalconas pueden generar mecanismos de acción adicionales a la apoptosis, induciéndose autofagia a través de la inhibición de genes de la vía PI3K / Akt / mTOR y la activación de caspasas. Esto sugiere que la inhibición del promotor puede mejorar los efectos anticancerígenos (Tsai et al., 2015). De manera similar You et al. (2019) (You et al., 2019), mencionan la relación entre la autofagia y el gen BRCA-1, que subyacen a la resistencia a medicamentos como el

cisplatino en el cáncer de ovario. La inhibición de las vías de resistencia combinada con otros enfoques quimioterapéuticos puede conducir a nuevas estrategias eficaces para prevenir la recaída del cáncer y la resistencia a los fármacos.

En general, los mecanismos de acción de los derivados de chalconas, se asocian en la interrupción del ciclo celular, la inhibición de la angiogénesis, la inhibición de la polimerización de la tubulina, la inducción de apoptosis y el daño en el ADN, (Ducki et al., 2009; Orlikova et al., 2011; Srinivasan et al., 2009).

ANTECEDENTES

SUSTITUCIONES DEL ANILLO AROMATICO: NITRÓGENO

Las modificaciones de la molécula base de chalcona en los anillos aromáticos han permitido generar moléculas con mayor actividad biológica, incrementando la eficacia, estabilidad y acoplamiento. Las sustituciones pueden realizarse en el anillo A o en el anillo B de la chalcona (Figura 4). Entre de las sustituciones descritas se incluyen: heterociclos (nitrógenos, oxígenos y azufre dentro del anillo aromático), tioles, tiopiranos, piranos, piridina, pirimidina, pirazil, indol, imidazol e izoquinolina. Se ha destacado la importancia del anillo de piridina en el campo de la química farmacéutica debido a: a) el par de electrones libre no está involucrado en el sistema aromático, lo que la convierte en una base y, por lo tanto, más accesibles para reaccionar con un protón; b) su carácter básico, ya que la piridina tiene un marcado carácter nucleófilo en su nitrógeno, no en el anillo, lo que no facilita procesos de sustitución electrófila aromática)(Insuasty- Obando, 2016).

Chauhan et al. (2014) sintetizó chalconas basadas en β -carbolina, sustituyendo el anillo B de la chalcona base, y evaluó su actividad citotóxica frente a un panel de líneas celulares de cáncer humano. Entre todos los compuestos, se identificó uno como el análogo más potente, mostrando una marcada actividad apoptótica en células de cáncer de mama (Chauhan et al., 2014)).

Peerzada et al. (2018) sintetizó una chalcona basada en piridil-indol sustituyendo ambos anillos aromáticos A y B. La evaluación de su actividad antiproliferativa in vitro contra las líneas celulares MCF-7 y HepG-2 reveló que los compuestos con un sustituyente NO_2 captador de electrones o terc-butilo donador de electrones mostraron valores de CI_{50} similares e inducían significativamente la apoptosis en las células cancerosas. El indol y la piridina son andamios atractivos para el desarrollo de fármacos atractivos, y sus derivados poseen un amplio espectro de actividades biológicas, incluida la inhibición contra el cáncer (Peerzada et al., 2018)).

SUSTITUCIONES DENTRO DEL ANILLO AROMÁTICO: FLÚOR

En general, los halógenos confieren estabilidad a los fármacos e impiden su fracaso en estudios farmacocinéticos y farmacodinámicos. Los compuestos halogenados atraviesan la membrana celular con mayor facilidad debido a la polaridad conferida por este tipo de átomos (Burmaoglu et al., 2017; Ponce et al., 2016; Xu et al., 2019). Dado que los organismos superiores generalmente no producen sustancias halogenadas, estas estructuras se consideran potencialmente fármacos (Herrera-Rodriguez et al., 2011).

En este contexto, se ha demostrado que chalconas sustituidas con flúor presentan actividad antibacteriana frente a cepas bacterianas resistentes a fármacos del grupo de los β -lactámicos (Xu et al., 2019). La inserción de un átomo de flúor en un compuesto biológicamente activo resulta en un cambio estérico mínimo, manteniendo así las interacciones con los sitios activos de la enzima, los sitios de reconocimiento de receptores y otros sistemas biológicos. Además, la alta negatividad electrónica del flúor puede inducir cambios significativos en las propiedades físicas y químicas de la molécula (Swallow, 2015).

SUSTITUCIONES DENTRO DEL ANILLO AROMÁTICO: METOXILOS

Las evaluaciones estructura-actividad describen que las chalconas con metoxilos en el anillo aromático han potenciado las actividades citotóxicas de las moléculas en líneas celulares. La presencia de estos grupos aumenta la electronegatividad de la molécula, lo que incrementa su capacidad de recibir electrones, por lo tanto, sus interacciones intermoleculares, aumentando así la potencia de la molécula (Custodio et al., 2017). Un estudio realizado por Saavedra et al. (2020) demuestra que una naftaleno-chalcona con un metoxilo en posición 5 en anillo aromático B presenta una Cl_{50} menor que la molécula sin este sustituyente ($Cl_{50} = 2.8 \pm 0.2 \mu M$ vs $9.7 \pm 2.0 \mu M$) (Saavedra et al., 2020), confirmando la importancia del metoxilo como sustituyente. Además, la sustitución con dimetoxilos en 3,4-dimetoxiacetofenona ha mostrado la capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano y fúngico, siendo más efectiva que sus análogos con otros tipos de sustituyentes (Sathiyamoorthi et al., 2013).

BIOISOTERISMO EN CHALCONAS

El bioisoterismo se basa en la idea de que los sustituyentes químicos de un compuesto con propiedades físicas o químicas similares (como tamaño, acidez y polaridad) pueden producir una actividad biológica similar en otro compuesto. Uno de los remplazos bioisostéricos más utilizados en la química farmacéutica es el del átomo de hidrógeno por un átomo de flúor. Dado que el átomo de flúor es similar en tamaño al de hidrógeno, la topología general de la molécula no se ve afectada significativamente, manteniendo intacta la actividad biológica deseada. El propósito de intercambiar un átomo por otro es ajustar las propiedades biológicas deseadas y mejorar las interacciones con el receptor, así como la farmacocinética y el metabolismo (Burmaoglu et al., 2016; López, 2015).

En este sentido, las chalconas han sido modificadas mediante el efecto del bioisoterismo. Burmaoglu et al. (2016) demostraron que las moléculas que presentaban el efecto del bioisoterismo, en comparación con el análogo base, eran

más eficaces en las líneas celulares de cáncer (Burmaoglu et al., 2016). Así mismo, este efecto ha demostrado ser efectivo para mejorar la actividad antibacteriana, haciendo a la molécula de chalcona más potente y soluble. Feldbaek Nielsen et al. (2004) mostraron concentraciones inhibitorias mínimas de 2 μM para la molécula modificada, en comparación con el análogo base ($> 100 \mu\text{M}$), mejorando notablemente la solubilidad. Además, el mecanismo de acción de las dos moléculas era diferente: la molécula modificada era bacteriostática, mientras que el análogo base era bactericida (Feldbaek Nielsen et al., 2004)). Esto podría ser una ventaja, ya que se cree que los compuestos bactericidas son mucho más tóxicos para las células de mamíferos que los compuestos bacteriostáticos (Gomes et al., 2017).

La participación de las chalconas en el desarrollo de futuros medicamentos es cada vez es mayor. Los investigadores han sintetizado nuevas moléculas con estructura de chalconas y han observado sus actividades biológicas. Por ejemplo, Torres-Sauret et al., (2017) sintetizaron nuevas chalconas que incluían metoxilos en el anillo B y grupos nitro en el mismo anillo aromático, Además, realizaron un cambio de un flúor por un hidrogeno para obtener dos nuevas moléculas, las cuales fueron evaluadas por su actividad anticancerígena en líneas celulares de cáncer de mama y cérvix.

LÍNEAS CELULARES

Como primer punto, la línea celular MCF-7, de tipo epitelio mamario y proveniente de cáncer de mama, fue aislada por primera vez de una mujer adulta de 69 años en la Michigan Cancer Foundation-7, en Detroit. Estas células poseen receptores hormonales de estrógenos y progesterona, respondiendo proliferativamente a los estrógenos. Su tamaño oscila entre 20 y 25 micrones. Esta línea celular está clasificada como luminal A debido a la presencia de receptores de estrógeno, la baja presencia de la proteína Ki-67 ($<14\%$) y los receptores de HER-2 negativos (Goldhirsch et al., 2011; Yuan et al., 2016). En monocapas, su morfología forma estructuras de domo debido a la acumulación de líquido entre la placa de cultivo y

la monocapa celular (European Collection of Authenticated Cell Cultures, n.d.). El tratamiento quimioterapéutico se basa en agentes anti-estrógenos como el tamoxifeno o inhibidores de la aromatasa. En tamoxifeno induce la detección de la fase G0 / G1 y G2 / M, promoviendo significativamente la apoptosis (Semina et al., 2017).

Por otro lado, la línea celular MDA-MB-231, Aislada del Centro Oncológico MD Anderson de la Universidad de Texas y proveniente de cáncer de mama, se clasifica como triple negativo (basal like) debido a la ausencia de receptores hormonales y HER-2, y a la expresión del oncogén WNT7B (Welsh, 2013). Este tipo de cáncer tienen un fenotipo agresivo, mal pronóstico, con mayor probabilidad de metástasis y deficiencia en valores específicos y terapéutico. La terapia estándar combina cirugía y/o radioterapia con agentes quimioterapéuticos estabilizadores de microtúbulos como taxanos (paclitaxel) y las antriciclinas (doxorubicina) (Yao et al., 2017), aunque se ha demostrado los efectos adversos asociados.

En el cáncer de cérvix se han identificado 15 tipos oncogénicos confirmados, siendo los tipos 16 y 18, presentes en la línea celular SiHa, responsables del 70 % de todos los cánceres de cérvix. Esta línea celular, obtenida de carcinoma de células escamosas según la ATCC, destaca por la propiedad oncogénica principal de las proteínas virales E6 y E7. Estas proteínas tienen la capacidad de inactivar a las proteínas celulares supresoras de tumor pRB y p53, respectivamente, permitiendo la transformación e inmortalización de las células infectadas. La inactivación de los genes supresores de tumor ya sea por mutaciones génicas o por presencia de virus, genera la desregulación del ciclo celular y la activación de varios protooncogenes (Vázquez-Ortíz et al., 2005).

JUSTIFICACIÓN

El cáncer es un proceso de crecimiento y diseminación incontrolado de células. Originado por la transformación de células normales en tumorales. Actualmente, sigue siendo uno de los mayores retos de la Salud Pública, ya que a nivel mundial es la segunda causa de muerte y el número de casos continúa en aumento. En México, la situación no es diferente: el cáncer es la tercera causa de muerte después de las enfermedades cardiovasculares y la diabetes. Entre las neoplasias con mayor mortalidad en mujeres se encuentran el cáncer de mama, cérvico-uterino, tiroides y colon.

Para combatir esta enfermedad se han desarrollado fármacos terapéuticos que no solo eliminan las células cancerosas, sino también las sanas: Además, algunos pacientes no responden positivamente a los tratamientos y presentan efectos adversos, sumado a que los tratamientos son muy costosos. Por ello, se ha optado por moléculas provenientes de fuentes naturales, como las chalconas, que presentan actividad antiproliferativa en líneas celulares de cáncer. Determinar los efectos de los derivados de chalconas en las líneas celulares asociadas a las neoplasias de mayor prevalencia en el país nos permitirá incrementar el conocimiento sobre alternativas terapéuticas más eficientes, potentes, seguras y accesibles, mejorando así la salud y calidad de vida de las personas.

HIPÓTESIS

Los derivados de chalconas exhiben actividad antiproliferativa en líneas celulares de cáncer a través de la inducción de apoptosis.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

OBJETIVOS

GENERAL

- Evaluar la actividad anticancerígena de los derivados de chalconas en líneas celulares provenientes de cáncer.

ESPECÍFICOS

- Sintetizar y caracterizar químicamente los derivados de chalconas.
- Determinar el efecto antiproliferativo de los derivados de chalconas en las líneas celulares de cáncer: MDA-MD231, MCF-7y SIHA; y no cancerígena: MCF-10A
- Evaluar el posible mecanismo de inducción de acción (apoptótico) de las chalconas en las líneas celulares de cáncer.

METODOLOGÍA

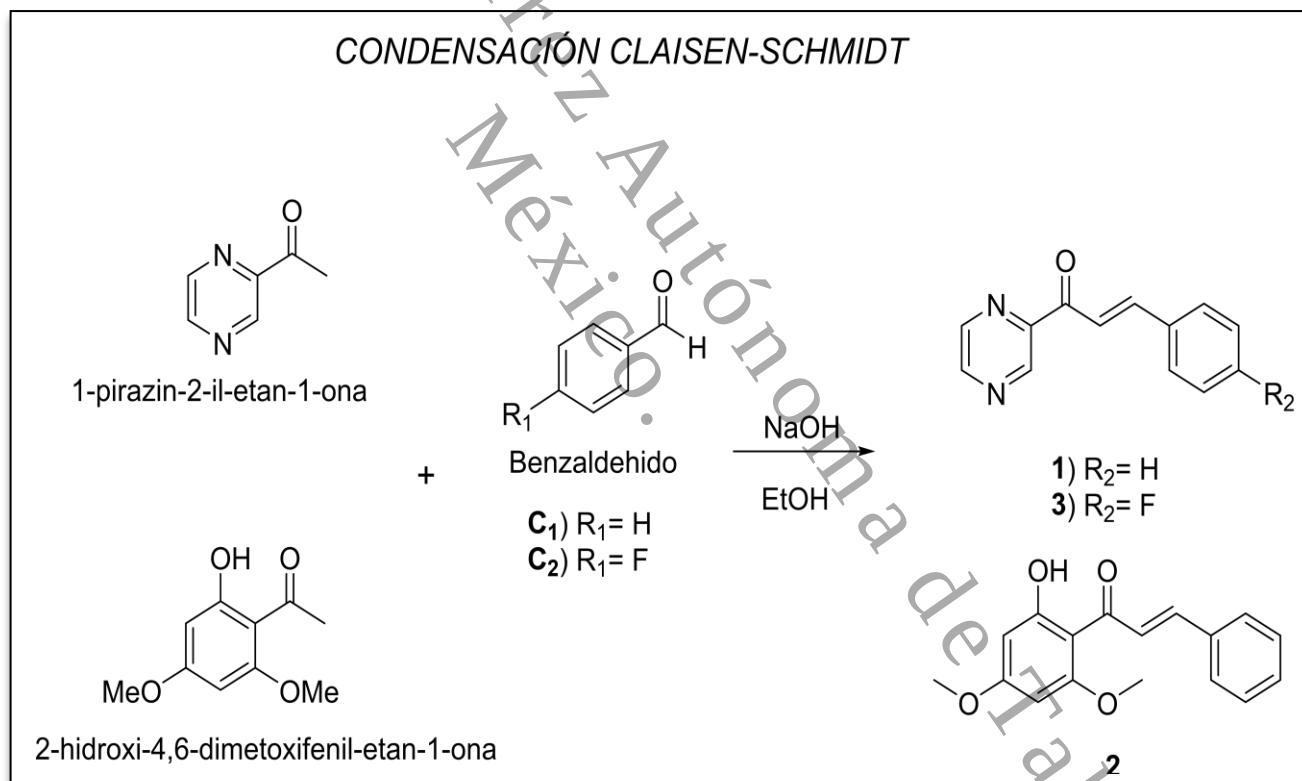
Tipo de investigación: experimental.

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE LOS DERIVADOS DE CHALCONAS

La síntesis de los derivados de chalconas se realizó a través de la condensación de Claisen-Schmidt (Figura 7).

Figura 7.

Síntesis de los derivados de chalconas, mediante condensación de Claisen-Schmidt.



Fuente: elaboración propia.

La purificación de los derivados de chalconas se realizó mediante cromatografía en columna, utilizando silica gel MERCK 60 (0.2 - 0.5 mm) como absorbente, y cristalización con pares de disolventes, como se describe en la síntesis de cada derivado.

La resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN- ^1H) se realizó en un equipo Bruker AscendTM a 500 y 600 MHz, utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia y metanol deuterado (CD_3OD) y cloroformo deuterado (CDCl_3) como disolventes. Los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón (ppm). La terminología utilizada es la siguiente: señal simple (s), señal doble (d), señal triple (t) y señal múltiple (m), J (constante de acoplamiento).

La resonancia magnética nuclear de carbono 13 (RMN- ^{13}C) se realizó en un equipo Bruker AscendTM a 125 MHz. Utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia y metanol deuterado (CD_3OD) y cloroformo deuterado (CDCl_3) como disolvente. Los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón (ppm) o δ .

La Cromatografía Líquida de Alta Resolución acoplada a Espectrometría de Masas (HPLC-MS) se realizó en un equipo Agilent Technologies 1290 Infinity II. Los pesos moleculares se determinaron por impacto electrónico (IE) a 100 V, y el valor del ion molecular se expresa como m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$.

SÍNTESIS DE CHALCONA 1

En un matraz de fondo redondo se colocaron 8 ml de etanol y 0.81 mM de benzaldehído. Esta mezcla se agitó constantemente a 0°C . Posteriormente, se agregaron 0.81 mmol de 2-acetilpirazina y cuatro mL de una solución 1M de NaOH (0.81 mmol) por goteo. La mezcla se mantuvo en agitación hasta alcanzar $28 \pm 2^\circ\text{C}$. El progreso de la reacción se monitoreó por cromatografía en capa fina (CCF) utilizando una mezcla de hexano-acetato de etilo (Hexano/ AcOEt , 8:2). Las placas se visualizaron bajo una lámpara de luz ultravioleta y se revelaron con ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 5% en metanol. El sólido obtenido se filtró, lavó con agua fría y secó a 40°C en una estufa. Posteriormente, se purificó mediante una columna

cromatográfica utilizando una mezcla de Hexano/AcOEt (95:5). La fracción de interés se cristalizó utilizando un par de disolventes (diclorometano/hexano). El producto resultante fue caracterizó mediante RMN-¹H, RMN-¹³C y HPLC-MS.

SÍNTESIS DE CHALCONA 2

En un matraz de fondo redondo se colocaron 8 mL de etanol, y 0.81 mM de benzaldehído. Esta mezcla se agitó constantemente a 0°C. Posteriormente, se añadieron 0.81 mmol de 2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil-etanona y 4 mL de una solución 1M de NaOH (0.81 mmol) por goteo. La mezcla se dejó en agitación hasta alcanzar 28 ± 2 °C. El progreso de la reacción se siguió por CCF utilizando una mezcla de Hexano/AcOEt (8:2). Las placas se visualizaron bajo una lámpara de luz ultravioleta y se revelaron con ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 5% en metanol. El sólido obtenido se filtró, lavó con agua fría y secó a 40°C en una estufa. Posteriormente, se purificó mediante una columna cromatográfica utilizando una mezcla de Hexano/AcOEt (95:5). La fracción de interés se cristalizó utilizando un par de disolventes (diclorometano/hexano). El producto resultante se caracterizó por RMN-¹H, RMN-¹³C y HPLC-MS.

SÍNTESIS DE CHALCONA 3

En un matraz de fondo redondo se colocaron 8 mL de etanol, y 0.81 mM de 4-fluorbenzaldehído. Esta mezcla se agitó constantemente a 0°C. Posteriormente, se añadieron 0.81 mmol de 2-acetilpirazina y cuatro mL de una solución 1M de NaOH (0.81 mmol) por goteo. La mezcla se dejó en agitación hasta alcanzar 28 ± 2 °C. El progreso de la reacción se siguió por CCF utilizando una mezcla de Hexano/AcOEt (8:2). Las placas se visualizaron bajo una lámpara de luz ultravioleta y se revelaron con H₂SO₄ al 5% en metanol. El sólido obtenido se filtró, lavó con agua fría y secó a 40°C en una estufa. Posteriormente, se purificó mediante una columna cromatográfica utilizando una mezcla de Hexano/AcOEt (95:5). La fracción de interés se cristalizó utilizando un par de disolventes (diclorometano/hexano). El producto resultante se caracterizó por RMN-¹H, RMN-¹³C y HPLC-MS.

CRECIMIENTO DE LÍNEAS CELULARES

Se obtuvieron las líneas celulares *MCF-7* y *MDA-MB-231* [cáncer de mama humano triple negativo (Basal like)] provenientes de cáncer de mama de subclasificación lumina A [(receptor de estrógeno (ER, +) y/o receptor de progesterona (RP, +), HER2 (-) y Ki67<14%]; la línea celular *SiHa* de cáncer de cérvix (VPH 16) y una línea celular no cancerígena, *MCF-10A*, de tejido mamario de ATCC (American Type Culture Collection). Las líneas celulares cancerígenas se cultivaron a 37 °C durante 72 horas en cajas de 10 x 20 mm, utilizado el medio Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) alto en glucosa, suplementado con suero fetal bovino al 5% y penicilina 10µM/mL - estreptomycin 25µg/mL), y con CO₂ al 5%. La línea MCF-10A se cultivó a 37 °C durante 72 horas en el medio Dulbecco's Modified Eagle's Medium/Nutrient Mixture F-12 (DMEN F-12) suplementado (suero de caballo 5%, insulina (10ug/mL), factor de crecimiento (1ug/uL) hidrocortisona (0.5 ug/mL) y penicilina 10µM/mL - estreptomycin 25µg/mL), y con CO₂ al 5%.

CONTEO CELULAR

Una vez que las líneas celulares alcanzaron el 80% de confluencia, se lavaron con Buffer de Fosfato Salino (PBS) pH 7.2. Posteriormente, se adicionaron 700 µL de tripsina-EDTA 0.5% 1X (Gibco®), se incubaron a 37°C y 5% de CO₂ durante 45 segundos. Luego; se agregó 6 mL medio de cultivo DMEN alto en glucosa o DMEN-12. Se tomó una alícuota de 10 µL, se mezcló con 40 µL de PBS y 50 µL de azul de tripano (Sigma Aldrich). Finalmente, se tomaron 20 µL de la mezcla y se colocaron en una cámara de Neubauer para realizar el conteo de viabilidad celular. El cálculo se realizó mediante la siguiente formula:

$$\# \text{ células/mL} = \frac{\# \text{ cel.}}{2} = \frac{\text{promedio}}{4} (10) (10,000)$$

Donde:

cel. = sumatoria de las células contadas en las cuadrículas de recuento

2 = número total de cuadrículas de recuento

promedio = resultado del cociente previo

4 = número de cuadrantes por cada cuadrícula de recuento

10 = dilución realizada

10,000 = número total de células por pozo

TRATAMIENTO CON LAS CHALCONAS 1, 2 y 3

Las líneas celulares en estudio se sembraron a una densidad de 1×10^4 células por pozo en una placa de cultivo de tejidos de 96 pozos y se incubaron durante 24 h en una atmósfera húmeda a 37 °C y 5% de CO₂. Posteriormente, las células se trataron con los derivados de chalconas 1, 2 y 3 a diferentes concentraciones (ver Tabla 1) disueltos DMSO. Se utilizó DMSO como blanco y las células sin tratamiento como control negativo. Después de agregar el tratamiento a los cultivos, se incubaron a 37 °C en atmósfera húmeda con 5% de CO₂ durante 72 h. Posteriormente, se realizó el ensayo de MTT. Finalmente se calculó la CI₅₀ y se generaron las curvas concentración-respuesta de las líneas celulares utilizando el software GraphPad Prism 5.0.

Tabla 1.

Concentraciones μ M de chalconas para tratamiento en las líneas celulares.

Chalcona 1	Chalcona 2	Chalcona 3
20	5	20
40	10	40
60	15	60
80	20	80
100	25	100
120	30	120
140	35	140

Para determinar el tiempo en que las chalconas 1, 2 y 3 presentaron mayor actividad, se realizó una cinética de reacción en las líneas celulares provenientes de cáncer durante 0, 24, 48 y 72 horas. Siguiendo el protocolo anterior, las líneas celulares fueron tratadas con la CI_{50} de los derivados de chalconas (ver Tabla 3). Las lecturas se realizaron a las 0, 24, 48 y 72 horas. Durante los tiempos de lectura las células se mantuvieron a 37 °C y en atmósfera húmeda con 5% de CO_2 . Al concluir los tiempos de incubación, se realizó la prueba de viabilidad celular MTT y se calcularon los resultados utilizando el software GraphPad Prism 5.0.

ENSAYO DE VIABILIDAD CELULAR POR MTT

Después de tratar los cultivos celulares con las chalconas 1, 2 y 3, se evaluó la viabilidad celular mediante el método MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol). Este método se basa en la reducción del MTT en 5-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-1,3-diphenylformazan (formazan) por acción de la enzima mitocondrial succinato deshidrogenasa. Se incubaron 100 μ L de MTT (0.25 mg / mL) (Sigma Aldrich) en medio claro alto en glucosa (Gibco®) durante 1 h. Posteriormente, se retiró el medio y se adicionaron 100 μ L DMSO (Dimetilsulfóxido) para disolver los cristales de formazan. La viabilidad celular se midió por espectrofotometría utilizando un lector de microplacas (The synergyHT, BioTek) a 540 nm, donde la cantidad de formazán producida es directamente proporcional al número de células vivas. Los resultados se expresaron en porcentaje de viabilidad celular en comparación con el 100% del control negativo. Los ensayos se realizaron triplicado con seis repeticiones cada uno.

DETERMINACIÓN DEL MECANISMO DE MUERTE CELULAR

EXTRACCIÓN DE ADN

La línea celular MDA-MB-231 se sembró a una densidad de 4×10^6 células en una caja de cultivo de 100x20 mm, utilizando medio de cultivo DMEN alto en glucosa. Las células se incubaron en atmósfera húmeda con 5% de CO_2 a 37 °C durante 24

h. Tras la incubación, se añadió a la CI_{50} de la chalcona (ver Tabla 3) y un control negativo con DMSO. Las células se incubaron en atmósfera húmeda con 5% de CO_2 a 37 °C durante 24 h más. Posteriormente, las células se recolectaron y lavaron dos veces con PBS. Se adicionaron 20 µg/mL de proteinasa K (BioLabs) y se incubaron 1 h a 37 °C. Concluida la incubación, se agregaron 300 µL de agua inyectable con un volumen igual de la mezcla fenol-cloroformo-álcool isoamílico (25:24:1). La mezcla se centrifugó a 11 000 rpm durante 15 min a 4 °C. Luego, se adicionó 0.1 volumen de acetato de sodio 3 M pH 5.2 y 2 volúmenes de etanol absoluto. La mezcla se dejó toda la noche a -20 °C, se centrifugó a 12 000 rpm durante 20 min y se lavó con etanol al 70 %. Finalmente, se resuspendió en 50 µL de agua inyectable. El ARN presente en la muestra se eliminó con la adición de 0.5 µL de RNasa y se incubó durante 1 h a 37 °C.

ELECTROFORESIS EN AGAROSA AL 2%

Para evaluar la apoptosis por fragmentación, se extrajo ADN de la línea celular MDA-MB-231 y se separó por electroforesis en un gel de agarosa al 2%. Se utilizó bromuro de etidio como agente intercalante y las bandas resultantes se visualizaron en un transiluminador UV de la marca Major Science.

EXTRACCIÓN DE PROTEÍNAS, SDS-PAGE Y ANÁLISIS DE WESTERN BLOT

Se colocaron células MDA-MB-231 (4×10^6 células) en una placa de cultivo de 100 x 20 mm durante 24 h. Posteriormente, se trataron con CI_{50} (µM) de las chalconas. Las células tratadas durante 24 horas se recolectaron y lisaron en un tampón de lisis de RIPA [NaCl 150mM, Triton X-100, Desoxicolato 0.5%, SDS 0.1%, Tris (pH 7.4) 50mM] en frío. Los lisados se centrifugaron a 12,000 rpm a 4° C durante 20 minutos y la proteína solubilizada total de cada muestra se cuantificó mediante el método de Lowry (Lowry et al., 1951). Se cargaron 80 µg de proteína en cada pocillo de un gel SDS-PAGE al 12%, y las proteínas se transfirieron por electrotransferencia a membranas de difluoruro de polivinilideno (PVDF) a 13 V durante 40 minutos. Las

membranas se bloquearon con one/step con anticuerpo contra DR4 (1:10,000, Fine test) y DR5 (1:2,500, Fine test) durante 24 horas y como anticuerpo secundario anti-conejo (1:20,000 y 1:15,000, Licor) durante 1 hora, respectivamente. Finalmente, los anticuerpos secundarios reaccionaron con el sustrato Clarity Western ECL Blotting (BIO-RAD). Se realizó un análisis densitométrico y se hicieron comparaciones de diferenciación a través de una t-Student en el software estadístico GraphPad Prism 5.0.

ANALISIS ESTADISTICO

Los datos obtenidos para la determinación de la CI_{50} fueron analizados utilizando el software estadístico GraphPad Prism 5.0. Además, se evaluó la cinética por tiempo comparando el control con el tratamiento mediante una prueba ANOVA de una vía, seguida de la prueba de Dunnett, también en GraphPad Prism 5.0. Para evaluar las diferencias en análisis densitométrico de las pruebas de Western Blot, se utilizó una prueba t-Student comparando el control con el tratamiento en el mismo software.

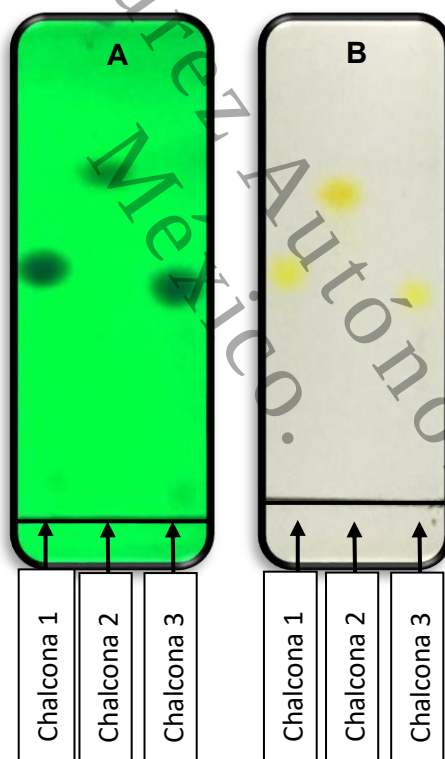
RESULTADOS

CHALCONA 1, 2 y 3

Como resultado de la síntesis, se obtuvieron 3 moléculas: *chalcona 1*, *chalcona 2* y *chalcona 3* (ver Figura 7). Los compuestos purificados se observaron en CCF, utilizando hexano/acetato de etilo (8:2) como fase móvil. Al revelar la placa, se identificaron los compuestos correspondientes a las chalconas en la parte superior (chalcona 1, $r_f = 0.500$ cm; chalcona 2, $r_f = 0.578$ cm; y chalcona 3, $r_f = 0.447$ cm), como se muestra en la Figura 8.

Figura 8.

CCF de las chalconas 1, 2 y 3.



Nota: Fase móvil hexano:acetato de etilo (8:2). A) visualizada con luz-UV.

B) revelada con H₂SO₄ al 5% en metanol.

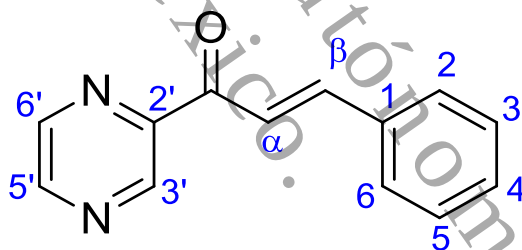
RMN-¹H Y RMN-¹³C DE LAS CHALCONAS 1, 2 y 3.

A continuación, se presentan los resultados. En el anexo 1 se muestra los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C .

Chalcona 1.- (*E*)-3-fenil-1-(2-pirazinil)-prop-2-en-1-ona. Se obtuvieron 144.70 mg (85 % rendimiento) de un sólido verde cristalino, con punto de fusión fue de 98-100 °C. RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD): δ 9.28 (H-3', d, $J = 1.4$ Hz), 8.82 (H-6', d, $J = 2.5$ Hz), 8.80 (H-5', dd, $J = 2.5, 1.5$ Hz), 8.23 (H- α , d, $J = 16.0$ Hz), 7.96 (H- β , d, $J = 16.0$ Hz), 7.79 – 7.74 (H-2, m), 7.50 – 7.44 (H-3 y H-4, m). RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD): δ 188.5 (C=O), 148.6 (C2'), 147.3 (C6'), 145.3 (C β), 143.9 (C3'), 143.8 (C5'), 134.8 (C1), 130.8 (C4), 128.8 (C3), 128.5 (C2), 119.9 (C α).

Figura 9.

Estructura de la chalcona 1.

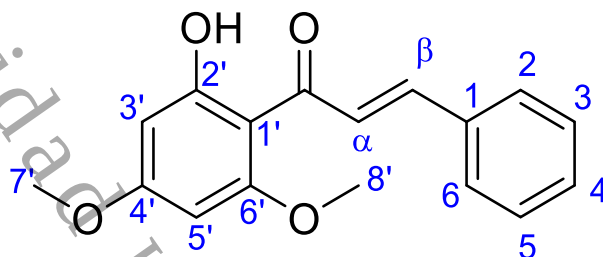


Chalcona 2.- (*E*)-3-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil)-prop-2-en-1-ona. Se obtuvieron 188.80 mg (82 % rendimiento) de un sólido amarillo cristalino, con punto de fusión de 82-84 °C. RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 14.32 (OH, s), 7.90 (H- β , d, $J = 16.0$ Hz), 7.78 (H- α , d, $J = 15.6$ Hz), 7.63–7.58 (H-2, m), 7.43 – 7.35 (H-3 y H-4, m), 6.10 (H-5', d, $J = 2.5$ Hz), 5.96 (H-3', d, $J = 2.5$ Hz), 3.91 (H-8', s), 3.83 (H-7', s). RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 196.7 (C=O), 168.4 (C4'), 166.3 (C2'), 162.5 (C6'),

135.6 (C1), 130.1 (C4), 128.9 (C3), 128.4 (C2), 127.5 (C α), 106.3 (C1'), 93.8 (C3'), 91.3 (C5'), 55.9 (C8'), 55.6 (C7').

Figura 10.

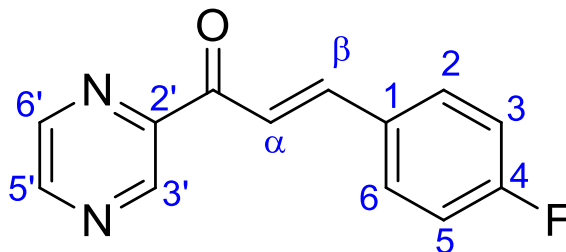
Estructura de la chalcona 2.



Chalcona 3.- (E)-3-(4-fluorofenil)-1-(2-pirazinil)-prop-2-en-1-ona. Se obtuvieron 120.10 mg (65 % rendimiento) de un sólido verde cristalino, con un punto de fusión de 120-122 °C. RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3): δ 9.38 (H-3', d, J = 1.1 Hz), 8.78 (H-6', d, J = 2.3 Hz), 8.69 (H-5', t, J = 1.1 Hz), 8.11 (H- α , d, J = 16.0 Hz), 7.94 (H- β , d, J = 16.0 Hz), 7.72 (H-2, dd, J = 8.6, 5.5 Hz), 7.12 (H-3, t, J = 8.6 Hz). RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl_3): δ 188.4 (C=O), 164.5 (C4), 148.4 (C2'), 147.5 (C6'), 145.0 (C3'), 144.3 (C β), 143.3 (C5'), 131.1 (C1), 130.9 (C2), 119.9 (C α), 116.2 (C3).

Figura 11.

Estructura de la chalcona 3.



HPLC-MS DE LAS CHALCONAS 1, 2 Y 3

En la Tabla 2 se muestra el rendimiento y pureza de cada molécula de las chalconas obtenidas.

Tabla 2.

Rendimiento y pureza de las moléculas de chalconas sintetizadas.

Chalcona	Rendimiento	Pureza
1	85 %	98.88 %
2	82 %	99.57%
3	65 %	99.73%

Los resultados indican la presencia del ion positivo EI-MS: m/z 211.08 $[M + H]^+$ para la *chalcona 1* (Calculado para $C_{13}H_{10}N_2O$, 210.07); m/z 285.11 $[M + H]^+$ para la *chalcona 2* (Calculado para $C_{17}H_{16}O_4$, 284.10); y m/z 229.07 $[M + H]^+$ para la *chalcona 3* (Calculado para $C_{13}H_{10}FN_2O$, 228.06). Los cromatogramas se muestran en el Anexo 2.

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIPROLIFERATIVO Y CÁLCULO DE LA CI_{50} DE LAS CHALCONAS EN LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER

Se evaluó la actividad antiproliferativa de los derivados de chalconas **1, 2 y 3** en las líneas celulares MCF-7, MDA-MB-231 y SiHa a través del ensayo del MTT.

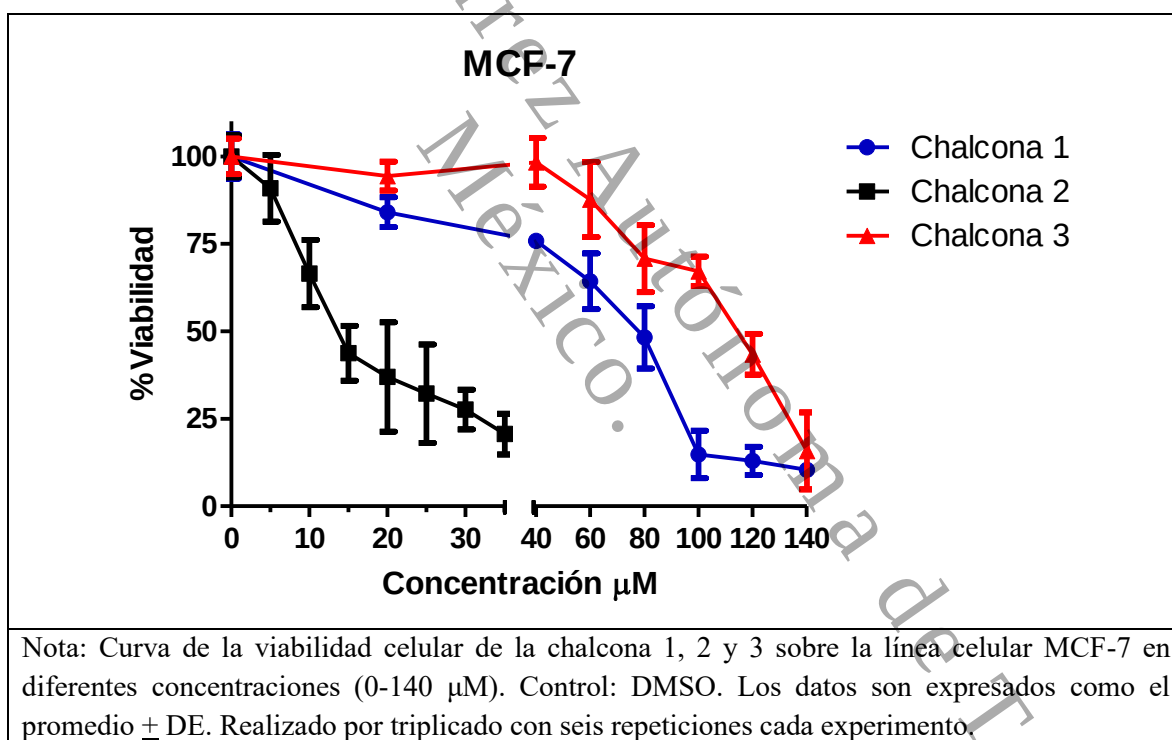
MCF-7

Se evaluaron las chalconas en la línea celular MCF-7, para conocer su actividad luminal A (RE (+) y/o RP (+), HER2 (-) y Ki67<14%). En la Figura 12 se muestra la curva concentración-respuesta de las chalconas **1, 2 y 3**, donde se observa que la disminución de la viabilidad celular es directamente proporcional al aumento de la

concentración de cada chalcona. Las chalconas **1** y **3** muestran efectos a partir de 40 μM . La chalcona **2** representada en negro en la gráfica, es la más sensible, mostrando efectos a partir de 5 μM . En el Anexo 3 se incluyen imágenes obtenidas con un microscopio invertido a 10X, después del tratamiento con las chalconas **1**, **2** y **3**, donde se observa la modificación de la línea celular en función de la concentración. Para calcular la CI_{50} de cada chalcona, los datos se transformaron a logaritmo, Tabla 3. Las gráficas transformadas se muestran en el Anexo 3.

Figura 12.

Curva concentración - respuesta de las chalcona 1, 2 y 3 en la línea celular MCF-7.

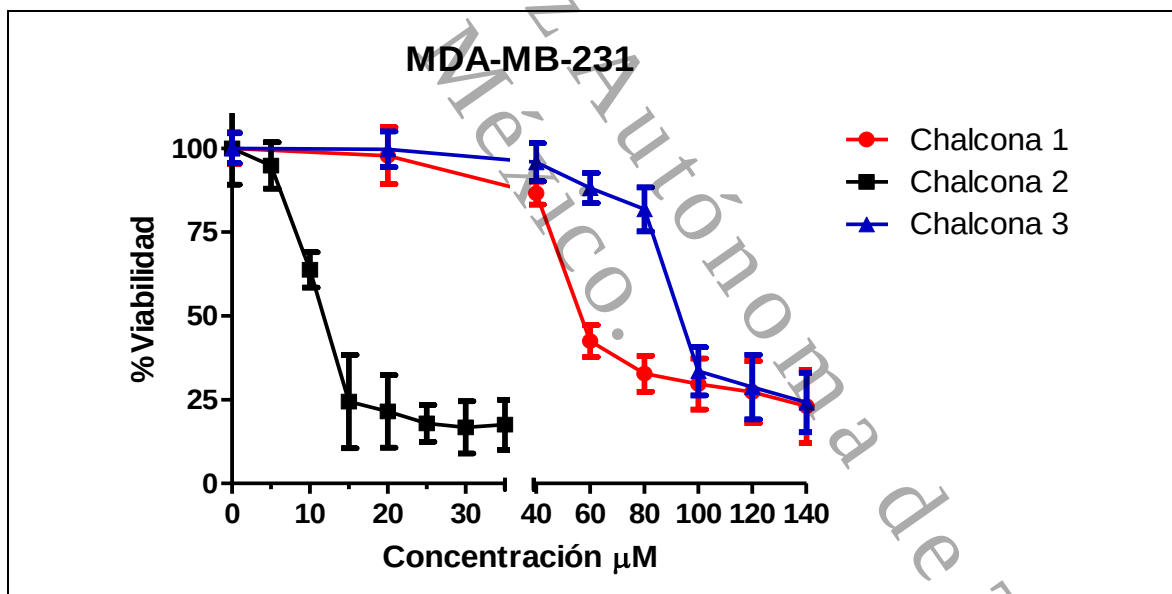


MDA-MB-231

Para evaluar la actividad antiproliferativa en una línea celular triple negativo, debido a la ausencia de los receptores hormonales y de HER-2, se analizaron las chalconas en la línea celular MDA-MB-231. La Figura 13 muestra una disminución de la viabilidad celular que es directamente proporcional al aumento de la concentración de cada chalcona. La chalcona **2** muestra efectos a partir de los 5 μM , la chalcona **1** a 40 μM y la **3** a 60 μM . En el Anexo 4 se incluyen imágenes obtenidas con un microscopio invertido en 10X después del tratamiento con las chalconas **1**, **2** y **3**, donde se observan modificaciones en la línea celular en función de la concentración.

Figura 13.

Curva concentración - respuesta de las chalcona 1, 2 y 3 en la línea celular MDA-MB-231.



Nota: Curva de la viabilidad celular de la chalcona 1, 2 y 3 sobre la línea celular MDA-MB-231 en diferentes concentraciones (0-140 μM). Control: DMSO. Los datos son expresados como el promedio $\pm$ DE. Realizado por triplicado con seis repeticiones cada experimento.

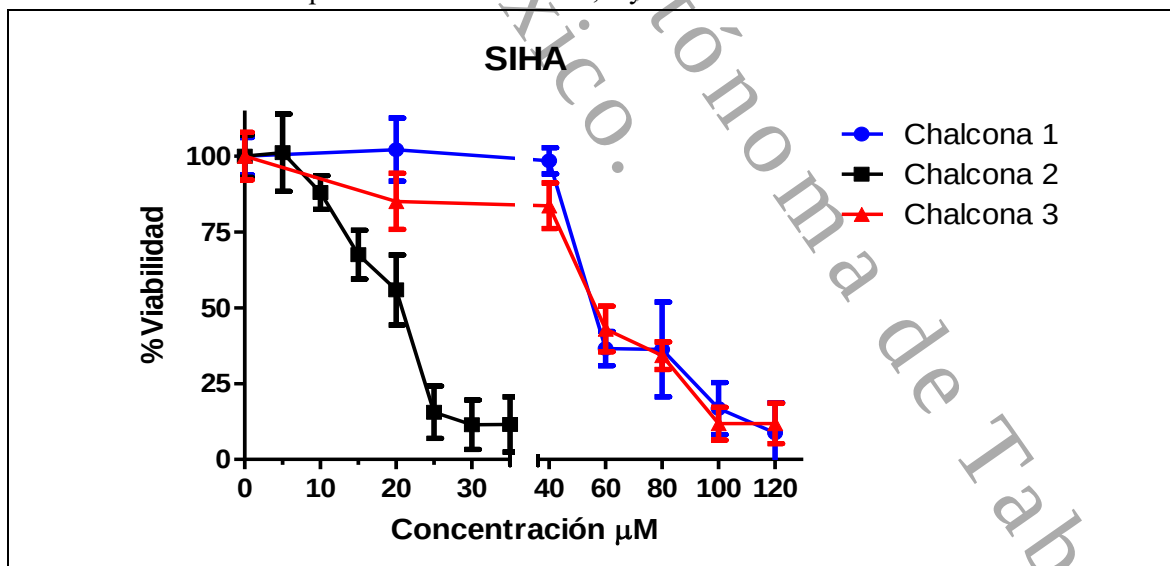
Para calcular la CI_{50} de cada chalcona, los datos se transformaron a logaritmo, Tabla 3. Las gráficas transformadas se muestran en el Anexo 4.

SiHa

El modelo utilizado para evaluar al cáncer de cérvix fue SiHa, una línea celular derivada de un carcinoma de células escamosas de grado II, atribuida al virus del papiloma humano. Tras evaluar a las chalconas en esta línea de cáncer, la Figura 14 muestra la curva concentración–respuesta de las chalconas **1**, **2** y **3**, donde se observa que la disminución de la viabilidad celular es directamente proporcional al aumento de la concentración de cada chalcona. La chalcona **2** representada en negro en la gráfica, es la más sensible, mostrando efectos a partir de 10 μM . En comparación, las chalcona **1** y **3** presentan efectos similares a partir de 40 μM . En el Anexo 5 se incluyen imágenes obtenidas con un microscopio invertido a 10X después del tratamiento con las chalconas **1**, **2** y **3**, donde se observa la modificación de la línea celular en función de la concentración.

Figura 14.

Curva concentración - respuesta de las chalcona 1, 2 y 3 en la línea celular SiHa.

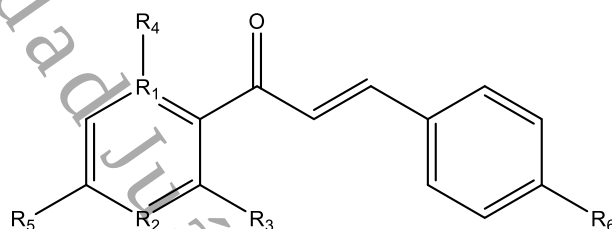


Nota: Curva de la viabilidad celular de la chalcona 1, 2 y 3 sobre la línea celular SiHa en diferentes concentraciones (0-140 μM). Control: DMSO. Los datos son expresados como el promedio $\pm$ DE. Realizado por triplicado con seis repeticiones cada experimento.

Para calcular la CI_{50} de cada chalcona, los datos se transformaron a logaritmo, Tabla 3. Las gráficas transformadas se muestran en el Anexo 5.

Tabla 3.

Efecto antiproliferativo de las chalconas 1, 2 y 3 en las líneas celulares de cáncer a las 72 h de tratamiento.



Comp	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Actividad antiproliferativa (CI_{50} , μM)		
							MDA-MB-231	MCF-7	SIHA
1	N	N	H	H	H	H	65.82 $\pm$ 5.10	67.60 $\pm$ 4.14	53 $\pm$ 14.35
2	C	C	OMe	OH	OMe	H	11.92 $\pm$ 2.48	15.01 $\pm$ 1.62	19.4 $\pm$ 3.24
3	N	N	H	H	H	F	76.78 $\pm$ 4.03	87.29 $\pm$ 4.76	60 $\pm$ 21.19
Taxol	-	-	-	-	-	-	50	-	-
*Tamo	-	-	-	-	-	-	-	8	-

Nota: Se muestran las CI_{50} de las moléculas de chalconas en las líneas celulares de cáncer. Los datos son expresados como el promedio $\pm$ DE. *Tamo=tamoxifeno.

CINÉTICA DE TIEMPO DE LA ACTIVIDAD ANTIPROLIFERATIVA DE LOS DERIVADOS DE CHALCONAS

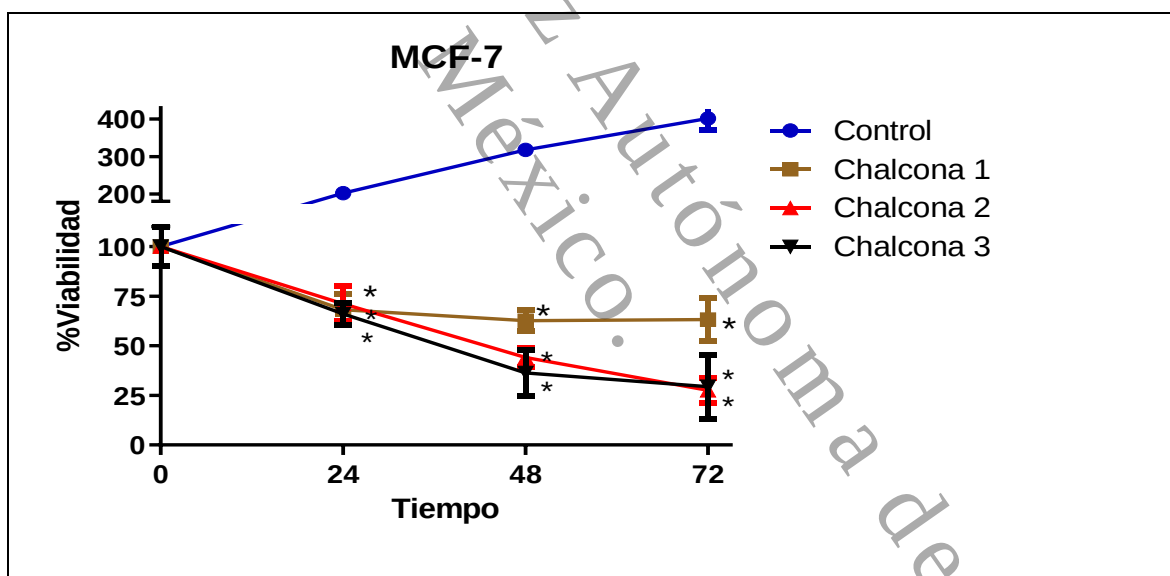
Con la finalidad de determinar el efecto antiproliferativo de las chalconas **1**, **2** y **3** con respecto al tiempo se realizó una cinética para cada línea celular utilizando la CI_{50} .

MCF-7

En la Figura 15 se observa al control (células cancerígenas tratadas con el vehículo de las chalconas) manteniendo su proliferación hasta las 72 h. Sin embargo, en presencia de las chalconas **1**, **2** y **3** se observó una inhibición de la proliferación celular, en búsqueda de la viabilidad celular del 50% se presentaron a diferentes tiempos, siendo entre 24 y 48 horas el rango, además se resumen los tiempos en la Tabla 4. Así mismo se realizó un análisis estadístico de ANOVA de una vía seguido de la prueba Dunnett comparando cada tratamiento versus control, donde se observa una diferencia significativa de $p < 0.0001$. En el Anexo 6 se incluyen las fotografías tomadas por cada tiempo con su respectivo control.

Figura 15.

Curva tiempo - respuesta de las chalcona 1, 2 y 3 en la línea celular MCF-7.



Nota: Curva de la viabilidad celular de la chalcona 1 (67.6 μM), 2 (15.01 μM) y 3 (87.29 μM) sobre la cinética por tiempo de MCF-7 durante 0, 24, 48 y 72 horas. Control: DMSO. Los datos son expresados como el promedio $\pm$ DE. Realizado por triplicado con seis repeticiones cada experimento. Con diferencia significativa mediante ANOVA de una vía, seguido de una prueba de Dunnett, $*p < 0.0001$ comparando control vs chalcona 1, 2 y 3.

Tabla 4.

Cinética de tiempos de las chalconas 1, 2 y 3 en la línea celular MCF-7 durante tratamientos de 0, 24, 48 y 72 horas.

Tiempo	Porcentaje de viabilidad celular			
	Control	Chalcona 1	Chalcona 2	Chalcona 3
0	100.00 ± 9.75	100.00 ± 9.75	100.00 ± 9.75	100.00 ± 9.75
24	202.22 ± 4.55	68.13 ± 7.89	71.19 ± 8.76	66.08 ± 5.48
48	317.67 ± 5.00	62.69 ± 5.28	44.12 ± 4.74	36.27 ± 21.73
72	401.71 ± 29.62	63.16 ± 11.02	27.48 ± 6.41	29.38 ± 16.15

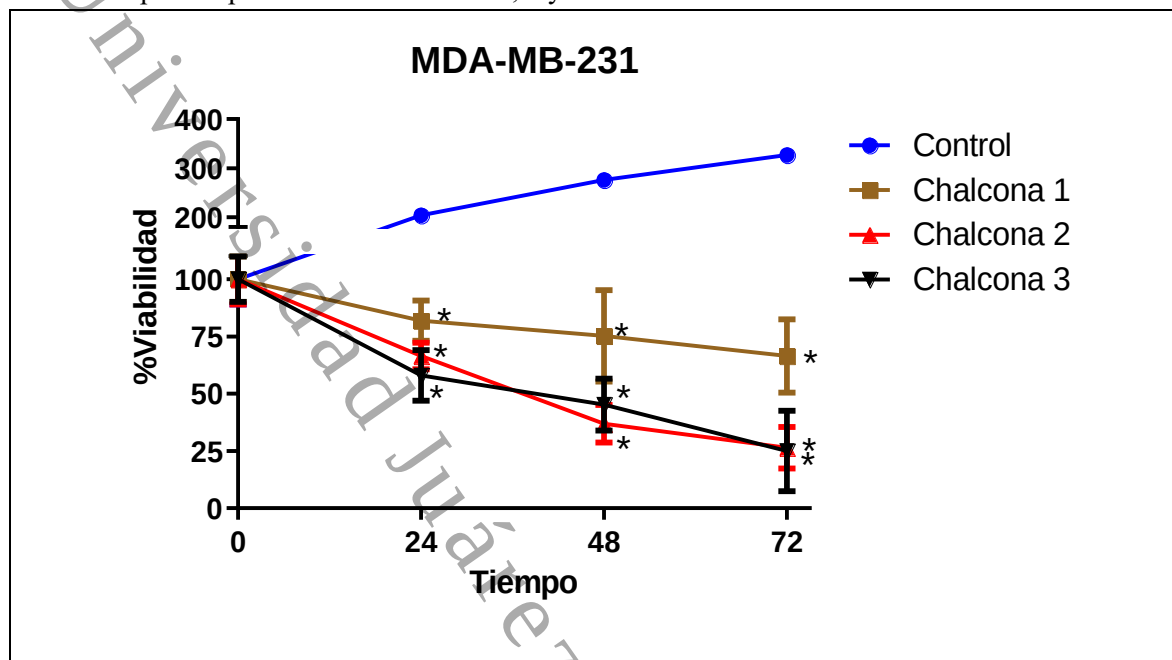
Nota: Viabilidad celular en porcentaje de las moléculas de chalconas 1, 2 y 3 en la línea celular MCF-7. Control: DMSO. Los datos son expresados como el promedio ± DE.

MDA-MB-231

La línea celular MDA-MB-231 se encuentra representada en la Figura 16 se visualiza al control (células cancerígenas tratadas con el vehículo) con una proliferación continua hasta las 72 horas, por otro lado, las chalconas 1, 2 y 3 se observa un efecto inhibitorio en diferentes tiempos en el 50% de la viabilidad celular los cuales se resumen en la Tabla 5. Así mismo se realizó un análisis estadístico de ANOVA de una vía seguido de la prueba Dunnett comparando cada tratamiento versus control, donde se observa una diferencia significativa de $p < 0.0001$. Además, en el Anexo 7 se incluyen las fotografías tomadas por cada tiempo con su respectivo control.

Figura 16.

Curva tiempo - respuesta de las chalcona 1, 2 y 3 en la línea celular MDA-MB-231.



Nota: Curva de la viabilidad celular de la chalcona 1 (65.82 μ M), 2 (11.92 μ M) y 3 (76.78 μ M) sobre la cinética por tiempo de MDA-MB-231 durante 0, 24, 48 y 72 horas. Control: DMSO. Los datos son expresados como el promedio $\pm$ DE. Realizado por triplicado con seis repeticiones cada experimento. Con diferencia significativa mediante ANOVA de una vía, seguido de una prueba de Dunnett, * $p < 0.0001$ comparando control vs chalcona 1, 2 y 3.

Tabla 5.

Cinética de tiempo de las chalconas 1, 2 y 3 en la línea celular MDA-MB-231 durante tratamientos de 0, 24, 48 y 72 horas.

Tiempo	Porcentaje de viabilidad celular			
	Control	Chalcona 1	Chalcona 2	Chalcona 3
0	100 + 11.00	100 + 11.00	100.0 + 11.00	100 + 11.00
24	204.13 + 8.50	81.91 + 8.83	66.47 + 5.78	58.01 + 11.02
48	276.24 + 4.67	69.43 + 8.61	36.87 + 8.15	45.25 + 11.40
72	327.06 + 2.84	49.78 + 13.38	26.37 + 9.12	27.76 + 7.33

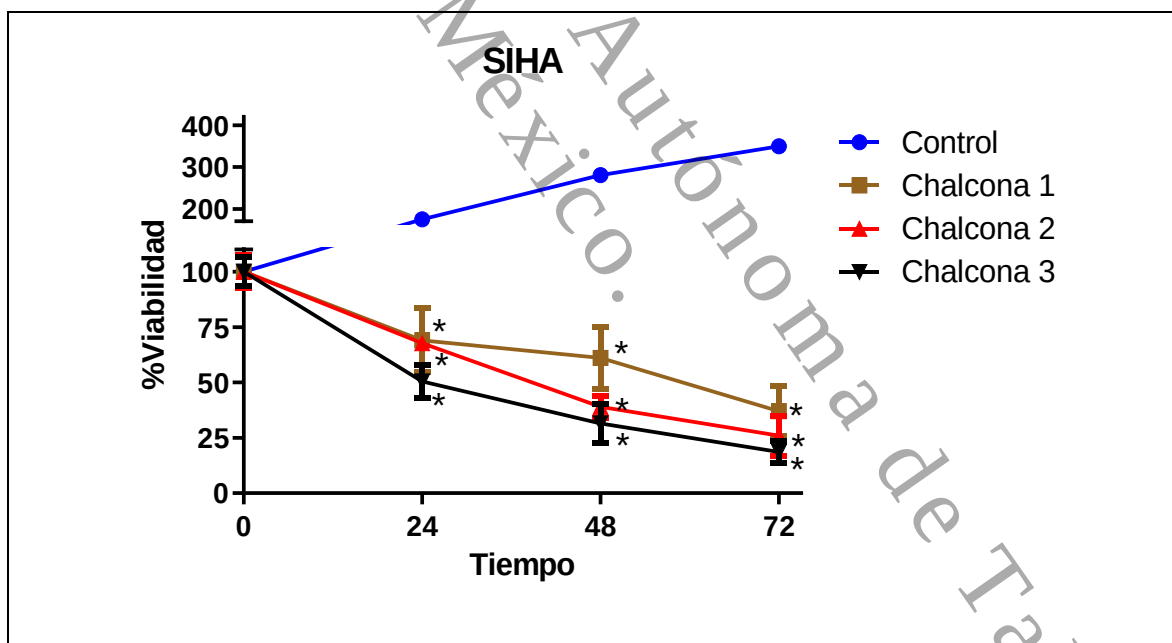
Nota: Viabilidad celular en porcentaje de las moléculas de chalconas 1, 2 y 3 en la línea celular MDA-MB-231. Control: DMSO (vehículo de las chalconas). Los datos son expresados como el promedio $\pm$ DE.

SiHa

En la Figura 17 se muestra a la línea celular SiHa en donde se observa al control (células cancerígenas tratadas con el vehículo) con una proliferación continua hasta las 72 horas, por el contrario, en las chalconas **1**, **2** y **3** se observa una inhibición de la proliferación celular al 50% en diferentes tiempos, los cuales se resumen en la Tabla 6. Así mismo se realizó un análisis estadístico de ANOVA de una vía seguido de la prueba Dunnett comparando cada tratamiento versus control, donde se observa una diferencia significativa de $p < 0.0001$. En el Anexo 8 se incluyen las fotografías tomadas por cada tiempo con su respectivo control.

Figura 17.

Curva tiempo - respuesta de las chalcona 1, 2 y 3 en la línea celular SiHa.



Nota: Curva de la viabilidad celular de la chalcona 1 (62.03 μM), 2 (18.86 μM) y 3 (59.13 μM) sobre la cinética por tiempo de SiHa durante 0, 24, 48 y 72 horas. Control: DMSO. Los datos son expresados como el promedio $\pm$ DE. Realizado por triplicado con seis repeticiones cada experimento. Con diferencia significativa mediante ANOVA de una vía, seguido de una prueba de Dunnett, $*p < 0.0001$ comparando control vs chalcona 1, 2 y 3.

Tabla 6.
Cinética por tiempo de las chalconas 1, 2 y 3 en la línea celular SiHa durante 0, 24, 48 y 72 h de tratamiento.

Tiempo	Porcentaje de viabilidad celular			
	Control	Chalcona 1	Chalcona 2	Chalcona 3
0	100.00 + 6.69	100.00 + 6.69	100.00 + 6.69	100 + 6.69
24	175.14 + 3.41	69.05 + 14.52	67.69 + 3.33	50.49 + 7.63
48	280.61 + 3.74	61.08 + 14.22	38.96 + 5.00	31.56 + 8.92
72	349.96 + 4.82	37.05 + 11.42	25.99 + 9.11	18.67 + 5.12

Nota: Viabilidad celular en porcentaje de las moléculas de chalconas 1, 2 y 3 en la línea celular SiHa. Control: DMSO. Los datos son expresados como el promedio $\pm$ DE.

EVALUACIÓN DE LAS CHALCONAS 1, 2 Y 3 EN UNA LÍNEA CELULAR NO CANCERÍGENA.

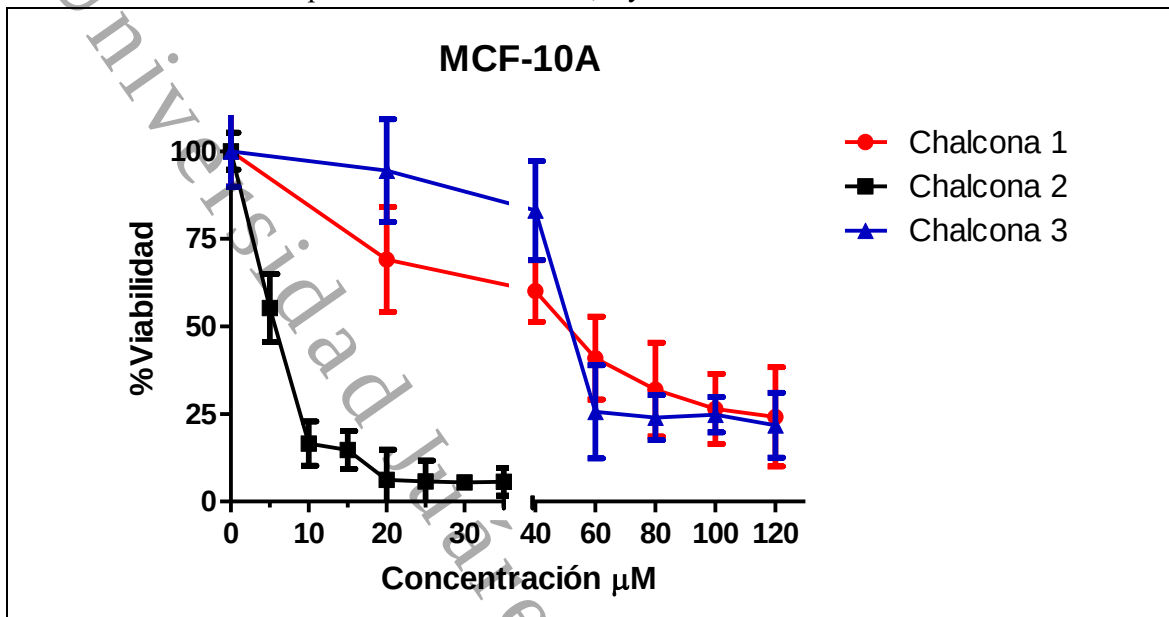
Para evaluar las chalconas **1**, **2** y **3** en células no cancerígenas, se utilizó la línea celular MCF-10A, una línea epitelial derivada de glándulas mamarias.

MCF-10 A

La Figura 18 muestra la curva concentración-respuesta de las chalconas **1**, **2** y **3**, donde se observa que la disminución de la viabilidad celular es directamente proporcional al aumento de la concentración de cada chalcona. La chalcona **1** reduce la viabilidad celular a una menor concentración en comparación con la **3**. La chalcona **2** representada en negro en la gráfica, es la más sensible. En el Anexo 6 se incluyen imágenes obtenidas con un microscopio invertido a 10X, después del tratamiento con las chalconas **1**, **2** y **3**, donde se observa la modificación de la línea celular en función de la concentración.

Figura 18.

Curva concentración - respuesta de las chalcona 1, 2 y 3 en la línea celular MCF-10A.



Nota: Curva de la viabilidad celular de la chalcona 1, 2 y 3 sobre la línea celular MCF-10A en diferentes concentraciones (0-120 µM). Control: DMSO. Los datos son expresados como el promedio $\pm$ DE. Realizado por triplicado con seis repeticiones cada experimento.

Para calcular la CI_{50} de cada chalcona, los datos se transformaron a logaritmo, Tabla 7. Las gráficas transformadas se muestran en el Anexo 9.

Tabla 7.

Efecto antiproliferativo de las chalconas 1, 2 y 3 en la línea celular no cancerígena MCF-10A a las 72 h de tratamiento.

Chalcona	Cálculo de la CI_{50} (µM) MCF-10A
1	45.56 + 6.30
2	5.13 + 0.64
3	45.02 + 5.83

Nota: CI_{50} de las moléculas de chalconas en la línea celular no cancerígena. Los datos son expresados como el promedio $\pm$ DE. Realizado por triplicado con seis repeticiones cada experimento.

EVALUACIÓN DE LA INDUCCIÓN DE APOPTOSIS DE LAS CHALCONAS 1, 2 Y 3.

FRAGMENTACIÓN DE ADN

Como se observa en la Figura 19 utilizando las concentraciones y el tiempo en el cual había una reducción de la viabilidad celular del 50% previamente calculado para cada caso de chalcona **1**, **2** y **3**, las células de MDA-MB-231 presentan un redondeo y reducción del número de células en comparación con el control.

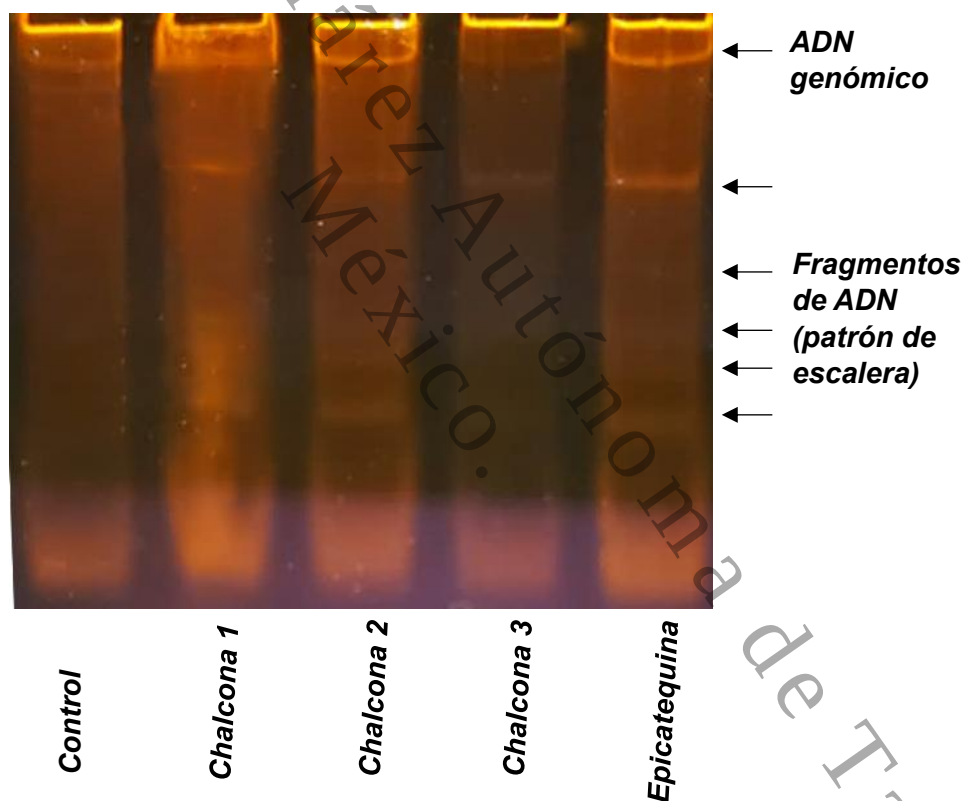
Figura 19.

Imágenes de la línea celular MDA-MB-231 con y sin tratamiento, fotografías tomadas un microscopio invertido a 25 X.



En la Figura 20 se muestra la fragmentación del ADN. Se observan bandas de diferentes tamaños (patrón de escalera) en los carriles de la chalcona **1**, **2** y **3**, las cuales fueron comparadas con un control positivo (epicatequina) y control negativo (DMSO) en el que no hay formación de bandas.

Figura 20.
Fragmentación del ADN.



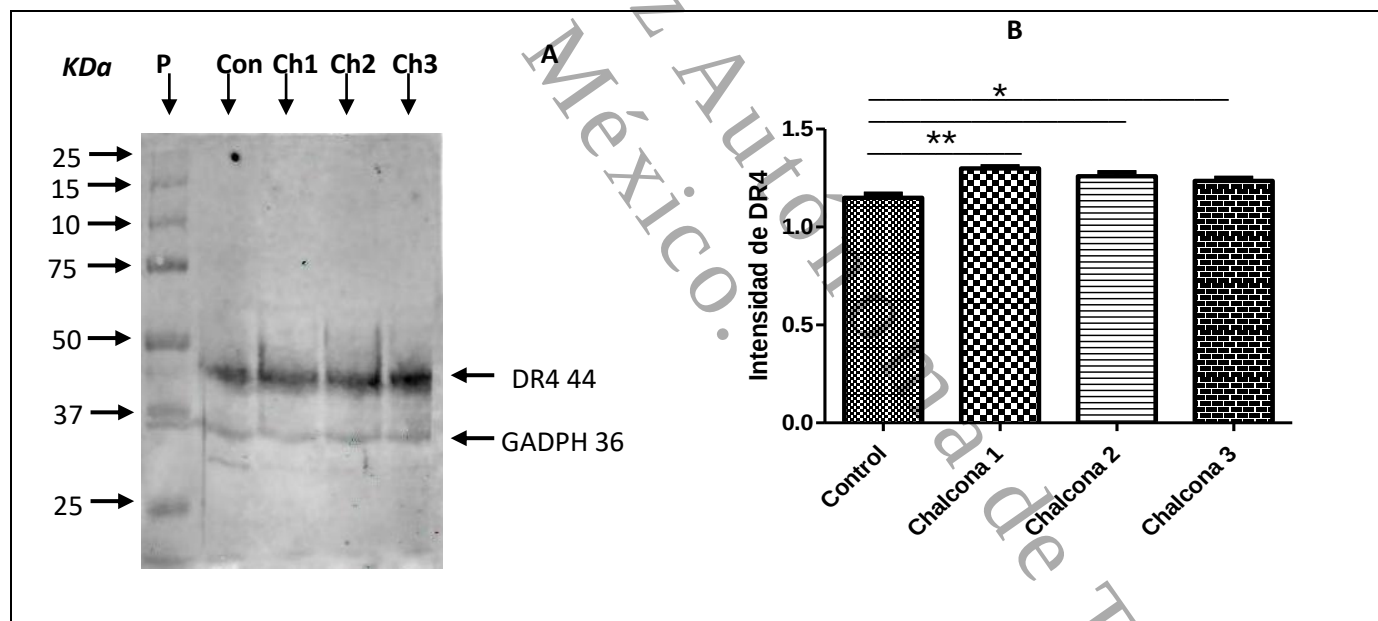
Nota: Electroforesis de agarosa al 2% de ADN de la línea celular MDA-MB-231.

WESTERN BLOT

En la Figura 21 se muestran los niveles relativos de la proteína DR-4. Se observa un incremento de la expresión de DR-4, peso molecular de 44 kDa, después del tratamiento con la chalcona **1**, **2** y **3**, en comparación con el control. Asimismo, se muestra a la proteína GADPH (gliceraldehído fosfato deshidrogenasa) de 36 kDa, utilizada como control de carga. En el análisis densitométrico, se observan diferencias estadísticamente significativas para la chalcona 1 ($p < 0.001$) y las chalcona 2 y 3 ($p < 0.05$), lo que indica que después del tratamiento con chalconas, se incrementa la expresión del receptor de muerte 4.

Figura 21.

Western Blot de la proteína DR4.

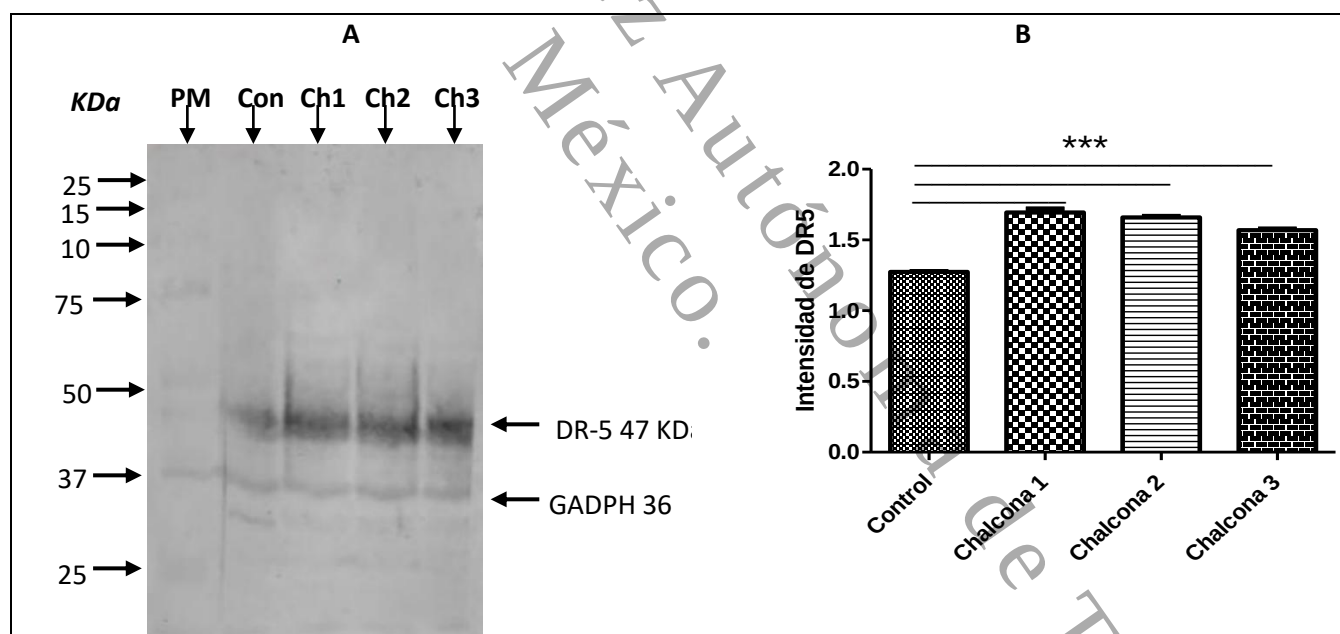


Nota: (A) Imagen de Western Blot contra la proteína DR-4. Las células MDA-MB-231 se trataron con las chalconas por 24 h. Se utilizó gliceraldehído fosfato deshidrogenasa (GAPDH) como control para normalizar la densidad de bandas; (B) análisis densitométrico de nivel de DR-4, las columnas representan la media $\pm$ DE expresadas en pixeles. * $P < 0.05$ y ** $p < 0.001$. PM= peso molecular; **Con**= control; **Ch1**= chalcona 1; **Ch2**= chalcona 2; **Ch3**= chalcona 3.

En la Figura 22 se muestran los niveles relativos del DR-5 obtenido mediante western blot. Se observa un incremento de la expresión de DR-5 de peso molecular de 47 kDa después del tratamiento con la chalcona **1**, **2** y **3**, comparando con el control. Así mismo se muestra a la proteína GADPH de 36 kDa utilizada como control de carga. Posteriormente se realizó un análisis densitométrico y se determinó diferencia estadísticamente significativa de p-valor <0.0001 en las chalconas 1, 2 y 3 en relación con el control. Estos resultados muestran que después del tratamiento con chalconas, se incrementa la expresión del receptor de muerte 5.

Figura 22.

Western Blot de la proteína DR5.



Nota: (A) Imagen de Western Blot contra la proteína DR-5. Las células MDA-MB-231 se trataron con las chalconas por 24 h. Se utilizó gliceraldehído fosfato deshidrogenasa (GAPDH) como control para normalizar la densidad de bandas; (B) análisis densitométrico de nivel de DR-4, las columnas representan la media $\pm$ DE expresadas en pixeles. *** p < 0.0001. PM= peso molecular; **Con**= control; **Ch1**= chalcona 1; **Ch2**= chalcona 2; **Ch3**= chalcona 3.

DISCUSIÓN

De acuerdo con la OMS, alrededor de una de cada seis mujeres desarrolla cáncer en alguna etapa de su vida y una de cada once morirá a consecuencia de esta enfermedad. Hasta el 2018, se estima que la carga mundial de cáncer ha aumentado a 18,1 millones de nuevos casos y 9,6 millones de muertes. El cáncer de mama representa el 24.2% de todos los nuevos casos de cáncer diagnosticados a nivel mundial, mientras que el cáncer de cérvix representa al 6.6% (International Agency for Research on Cancer, 2018). Las estadísticas muestran que nueve de cada diez mujeres que mueren de cáncer de cuello uterino viven países de ingresos bajos o medios (Ginsburg et al., 2017). A pesar de la eficacia y la supervivencia que ofrecen los agentes quimioterapéuticos actuales, no se cuenta con un tratamiento totalmente efectivo y sin efectos adversos. En este sentido, la búsqueda de agentes quimioterapéuticos selectivos para células cancerosas es una prioridad (Nurgali et al., 2018). Las chalconas, compuestos precursores de flavonoides, han mostrado un gran avance en las investigaciones recientes contra el cáncer (Shukla et al., 2020; Zhuang et al., 2017).

Como previamente se ha mencionado, las chalconas 1, 2 y 3 son moléculas diferentes, estructuralmente hablando, entre los sustituyentes que se encuentran son el anillo de pirazina, metoxilos, hidroxilos y flúor (ver figura 9, 10 y 11). (Chlupacova et al., 2015) reportó el efecto antibacteriano y antifúngico de chalconas con sustituciones de pirazina. La pirazina se le considera como hidrofílica, debido a dos pares solitarios de nitrógeno endocíclico en el plano heterocíclico, que actúan como aceptores de H (Kučerová-Chlupáčová et al., 2008). Sin embargo, las características químicas que confiere la sustitución con pirazina se potencian con derivados en grupos de extracción de electrones en el anillo B posiciones 2 y 4. Específicamente las moléculas con átomos de halógenos son las que poseen propiedades de extracción de electrones, potenciando la actividad biológica (Kucerova-Chlupacova et al., 2016).

En los resultados de este estudio, se observó una relación estructura-actividad (SAR) directamente proporcional al incremento de la concentración de la molécula en diferentes líneas celulares de cáncer. Además, se determinó el cálculo de la CI_{50} para las chalconas evaluadas (ver tabla 3). Sin embargo, en la búsqueda de los efectos antiproliferativos Stepanić et al. (2019) reportaron un análisis de SAR del anillo de pirazina que mostró efectos citotóxicos, en una línea celular de THP-1 proveniente de leucemia. Al comparar el anillo de pirazina con su análogo, el anillo bencénico, se observó que el anillo de pirazina muestra una CI_{50} de 40 μM frente a 70 μM , respectivamente. Lo que sugiere la importancia del anillo pirazina. Hasta la fecha, no existen estudios que describan los anillos de pirazina en chalconas en líneas celulares de cáncer de mama y de cérvix (Stepanić et al., 2019).

A pesar de que en la literatura cuenta con diversos estudios sobre las chalconas, pocos se han centrado en las moléculas que poseen flúor como sustituyentes. Este átomo tiene la capacidad de inducir cambios significativos en las moléculas, como reducir la reactividad, incrementar la biodisponibilidad y la electronegatividad. Además, el enlace entre el C-F aumenta la resistencia a procesos metabólicos (Burmaoglu et al., 2016).

Una investigación realizada en células de cáncer de mama (MCF-7 y MDA-MB-231), elaborado por dos Santos et al. (2019) sintetizaron una serie de compuestos derivados de las chalconas (dos Santos et al., 2019). En este estudio, se compararon varios compuestos, destacando dos moléculas por su efecto antiproliferativo. La primera molécula, con un átomo de flúor en posición 2 al anillo aromático A, mostró una mayor potencia (IC_{50} : 13.2 ± 3.2) en comparación con la molécula sin flúor (IC_{50} : >100) en la línea celular MCF-7. Asimismo, al sustituir el anillo aromático A por un heterociclo de 3-piridil, se mejoró la potencia (IC_{50} : 33.9 ± 7.1) en comparación con su análogo (IC_{50} : 60.3 ± 2.9) en la línea celular MDA-MB-231, demostrando la importancia del nitrógeno como sustituyente. Estos estudios sirvieron de base para comparar la chalcona 1 y la chalcona 3, evidenciando que el uso de átomos de flúor y sustituyentes con nitrógeno mejora la actividad biológica de la molécula. El átomo de flúor es el segundo más utilizado (después del nitrógeno) para reemplazar el

enlace C-H o C-O por C-F, mejorando propiedades farmacológicas como la estabilidad metabólica, la unión a moléculas diana y una mayor permeabilidad de la membrana (Burmaoglu et al., 2019). Por otro lado, Burmaoglu et al. (2016) sintetizaron una serie de moléculas basadas en chalconas sustituidas con metoxilos o hidroxilos en el anillo aromático A y con sustituciones de flúor en posición 2 y 5 en el anillo aromático B. Las moléculas exhiben actividades antiproliferativas con mayor sensibilidad que aquellas que no contienen el átomo de flúor. Las líneas celulares utilizadas fueron A549 (cáncer de pulmón), A498 (cáncer de riñón), HeLa (cáncer de cérvix), A375 (cáncer de piel), Hep-G2 (cáncer de hígado), mostrando concentraciones inhibitorias de 0.030 a 0.274 μM . Asimismo, se evaluaron los derivados de chalcona en una línea celular no cancerígena HEK293 (células embrionarias de riñón), con CI_{50} de 0.598 y 0.711 μM , demostrando que las moléculas presentan selectividad por células de cancerígena. Adicionalmente, se evaluó la cinética en función del tiempo utilizando la CI_{50} en la línea celular Hep-G2; demostrando que la concentración de los derivados de chalconas, reduce la viabilidad celular al 50% a partir de las 24 horas de tratamiento (Burmaoglu et al., 2016).

En nuestro caso (ver figura 15, 16), la línea celular MCF-7 se observó diferencias entre las moléculas 1 y 3, siendo la chalcona 1 más potente que la chalcona 3 (a 72 horas de tratamiento). Sin embargo, comparándolos a 48 horas utilizando la CI_{50} de cada molécula, ocurrió lo contrario. La molécula con el átomo de flúor fue más activa con respecto al tiempo, es decir, presentó disminución del 50 % en la viabilidad celular en menor tiempo en comparación con la chalconas que no tiene flúor en las líneas celulares MCF-7 (Chalcona 1 y 2) y MDA-MB-231 (chalcona 1). De acuerdo con los resultados, la chalcona sustituida con flúor incrementa la inhibición proliferativa de las células cancerígenas de mama sugiriendo este efecto a las características asociadas con el átomo de flúor lo cual nos permite concluir que el átomo de flúor juega un papel muy importante en la farmacocinética de la molécula (Burmaoglu et al., 2016; Hagmann, 2008).

En la línea celular SiHa (ver Figura 14), las chalconas 1 y 3 mostraron comportamientos muy similares, con CI_{50} de 53 y 60 μM después de 72 horas de tratamiento, respectivamente. Sin embargo, al analizar la cinética (ver Figura 17), se observa que la chalcona 3 es más eficaz a partir de 24 horas de tratamiento, superando incluso a la chalcona 2 (Tabla 6). Estos resultados se comparan con los valores de CI_{50} reportados por Tsai et al. (2015) que describe el efecto de Licochalcona A en células de cáncer de cérvix (SiHa y HeLa). Se concluye que la citotoxicidad en células SiHa y HeLa depende de la dosis y el tiempo, con valores de CI_{50} de $42.2 \pm 3.5 \mu M$ y $48.5 \pm 4.2 \mu M$ después de 24 horas; valores de CI_{50} de $32.9 \pm 4.2 \mu M$ y $40.3 \pm 0.8 \mu M$ después de 48 horas de tratamiento, respectivamente (Tsai et al., 2015).

La chalcona 2 se destacó como la molécula más potente entre las tres evaluadas en las líneas celulares MDA-MB-231, MCF-7 Y SiHa (ver figuras 12, 13 y 14). Es importante mencionar que la chalcona 2, conocida como flavokawain B, puede obtenerse de forma natural o sintetizada. Esta chalcona ha sido estudiada en líneas celulares de cáncer de colon (HCT116), de pulmón (A549) y en células no cancerígenas (NIH3T3). En la línea HCT116, se observó un CI_{50} de 25 μM tras 24 horas de tratamiento. Comparado con nuestros resultados, flavokawain B es más potente en las líneas celulares de cáncer de mama, con concentraciones de 11.92 μM en la MDA-MB-231 y 15.01 μM en la MCF-7 (ver tabla 3). Además, se ha descrito que esta chalcona activa la vía de apoptosis (Kuo et al., 2010). Asimismo, se ha demostrado que la flavokawain B puede inducir apoptosis a través de receptores de muerte en líneas celulares de adenocarcinoma endometrial a una concentración de 8.8 μM (Eskander et al., 2012).

La mayoría de los agentes quimioterapéuticos tienen la capacidad de inducir apoptosis (Kabała-Dzik et al., 2018; Mohamed et al., 2018). Durante la apoptosis, las células experimentan cambios morfológicos y bioquímicos, tales como: redondeamiento de la célula, reducción del volumen celular, condensación de la cromatina y fragmentación del ADN (J. H. Zhang & Xu, 2000). La fragmentación del ADN está asociada con la muerte celular programada. El ADN es escindido por una

endonucleasa que fragmenta la cromatina en unidades nucleosomales, que son múltiplos de oligómeros de aproximadamente 180 pb y aparecen como una escalera de ADN cuando se procesan en un gel de agarosa. La formación de esta escalera representa el punto final del proceso de degradación del ADN (Matassov et al., 2004). Nuestros resultados, presentados en la Figura 20, muestran el patrón de escalera en la chalconas 1, 2 y 3, comparadas con la epicatequina como control positivo y con un control negativo (células tratadas con DMSO). La epicatequina, un flavonoide que ha demostrado actividad anticancerígena en líneas celulares de cáncer de mama a concentraciones de 350 μ M, selectiva solo para células cancerígenas, fue usado como control positivo debido a que el mecanismo de muerte celular es por apoptosis, mostrando un patrón de escalera en un gel electroforesis (Pereyra-Vergara et al., 2020).

Aunque en la literatura se describen otros mecanismos de muerte celular como la necrosis o la senescencia, estos no se asemejan a la apoptosis. La necrosis es un proceso desordenado e independiente de energía, caracterizado por un aumento en el volumen celular que desencadena citólisis y la liberación del contenido citoplasmático al exterior, lo que provoca inflamación y daño necrótico en los tejidos afectados. Por otro lado, la senescencia celular es un estado permanente de detención del ciclo celular que ocurre en células en proliferación sometidas a diferentes tipos de estrés. En las células senescentes, la detención del ciclo celular se asocia con niveles elevados de inhibidores del ciclo celular, como p16INK4a, p21CIP1 y p27. Además, se observa una mayor expresión de p19ARF, p53 y PAI-1, que se utilizan como biomarcadores de senescencia. Los principales factores que inducen la senescencia incluyen el estrés oxidativo, la falta de nutrientes, grandes variaciones de temperatura, la confluencia celular, el uso excesivo de enzimas proteolíticas (como la tripsina), la contaminación del medio y el daño a los telómeros, entre otros.

En este sentido, se han descrito los mecanismos por los cuales las chalconas activan la vía de apoptosis (dos Santos et al., 2019; Hseu et al., 2020) y la necrosis (Cancino et al., 2021). Los derivados de chalconas evaluados en este estudio

activan la vía apoptótica, comprobado mediante la fragmentación de ADN (Figura 20).

Dado que existen dos vías de apoptosis, la intrínseca y la extrínseca, se buscó esclarecer cuál de estas vías es activada por las moléculas estudiadas. De hecho, se ha demostrado que las chalconas y sus derivados pueden inducir efectos apoptóticos a través de la regulación de ciertas proteínas relacionadas con la apoptosis, como p53, p21 y Bax. Asimismo, se observa un decremento en las proteínas antiapoptóticas como Bcl-2 y procaspasa 9 (Bagul et al., 2017).

Los ligandos endógenos, como el TRAIL, y los exógenos, como ciertos fármacos, pueden desencadenar apoptosis en las células cancerosas a través de la muerte mediada por receptores de muerte (DR). Estos receptores contienen dominios de muerte citoplasmática completos y funcionales, responsables de la activación de la vía apoptótica en las células cancerosas. La cascada de señalización incluye la oligomerización del receptor, el reclutamiento de la molécula adaptadora FADD (dominio de muerte asociado a Fas) con la formación del DISC (complejo de señalización inductor de muerte), la activación de las caspasas iniciadoras, la escisión de las caspasas efectoras y, finalmente, la fragmentación del ADN, (Szliszka et al., 2012)

Tomando en cuenta el experimento de la fragmentación del ADN, evaluar a los DR en esta investigación es fundamental para entender la vía de inducción de apoptosis. La activación DR-4 Y DR-5 está estrechamente relacionada con la apoptosis (Artykov et al., 2021). Eskander et al. (2012) evaluaron el efecto de la flavokawain B sobre el receptor de muerte DR-5, demostrando que la apoptosis puede llevarse a cabo a través de la vía extrínseca en células provenientes de cáncer de leiomioma uterino, a partir de una concentración de 2.2 μM (Eskander et al., 2012). Nuestros resultados concuerdan con estos hallazgos, mostrando diferencias estadísticamente significativas en DR-5 ($p < 0.0001$) entre el control y el tratamiento con chalconas 1, 2 y 3. Para DR-4, se observaron diferencias significativas de $p < 0.05$ entre el control y las chalconas 2 y 3, y de $p < 0.001$ entre el

control y la chalcona 1. Esto demuestra que las chalconas presentan actividad antiproliferativa a través de la apoptosis, siendo la vía extrínseca la principal implicada. Sin embargo, en estudios previos no se ha demostrado que las chalconas 1 y 3 estén asociadas a los receptores de muerte DR-4 y DR-5.

Hasta el 2017, se han identificado cinco receptores de muerte, también conocidos como TRAIL: DR4, DR5, DcR1, DcR2 y osteoprotegerina (OPG). Estos receptores se caracterizan por un dominio extracelular rico en cisteínas, esencial para la unión de su ligando afín. Solo dos de ellos, DR4 y DR5, albergan el dominio de muerte, un tramo de 90 aminoácidos (aa), necesario y suficiente para activar la maquinaria apoptótica; por lo tanto, representan objetivos prometedores para el tratamiento del cáncer. DR4 es una proteína N-glicosilada de 468 aa, también conocida como miembro 10A de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral. DR5, que está O-glicosilado, también se conoce como miembro 10B de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral, CD262, Killer / Ly98, receptor 2 del ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF, TRICK2A y TRICKB. Aunque DR5 se presenta en dos isoformas, DR5a (411 aa) y DR5b (442 aa), sus funciones específicas o diferenciales siguen siendo desconocidas hasta la fecha. Es importante mencionar que DR4 y DR5 comparten un 58% de similitud en su dominio extracelular y un 65% de similitud en su dominio intracelular (Dubuisson & Micheau, 2017).

CONCLUSIÓN

Las chalconas 1, 2 y 3 mostraron actividad antiproliferativa en líneas celulares de cáncer. Tras realizar el ensayo de cinética por tiempo, se demostró que la chalcona 3, que presenta un átomo de flúor en el anillo aromático B, actúa con mayor rapidez en comparación con las otras chalconas.

El análisis de la prueba de fragmentación de ADN reveló que el mecanismo de acción de las chalconas 1, 2 y 3 es a través de la apoptosis. Además, los resultados del análisis de Western Blot demostraron que la vía extrínseca de apoptosis está altamente implicada en el mecanismo de acción de las chalconas 1, 2 y 3.

REFERENCIAS

- Artykov, A. A., Yagolovich, A. V., Dolgikh, D. A., Kirpichnikov, M. P., Trushina, D. B., & Gasparian, M. E. (2021). Death Receptors DR4 and DR5 Undergo Spontaneous and Ligand-Mediated Endocytosis and Recycling Regardless of the Sensitivity of Cancer Cells to TRAIL. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9(September), 1–15.
- Bagul, C., Rao, G. K., Makani, V. K. K., Tamboli, J. R., Pal-Bhadra, M., & Kamal, A. (2017). Synthesis and biological evaluation of chalcone-linked pyrazolo[1,5-*A*] pyrimidines as potential anticancer agents. *MedChemComm*, 8(9), 1810–1816. <https://doi.org/10.1039/c7md00193b>
- Bazzaro, M., Anchoori, R. K., Mudiam, M. K. R., Issaenko, O., Kumar, S., Karanam, B., Lin, Z., Isaksson Vogel, R., Gavioli, R., Destro, F., Ferretti, V., Roden, R. B. S., & Khan, S. R. (2011). α,β -unsaturated carbonyl system of chalcone-based derivatives is responsible for broad inhibition of proteasomal activity and preferential killing of human papilloma virus (HPV) positive cervical cancer cells. *Journal of Medicinal Chemistry*, 54(2), 449–456.
- Bender, T., & Martinou, J. C. (2013). Where killers meet-permeabilization of the outer mitochondrial membrane during apoptosis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(1), 1–13. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011106>
- Bortolotto, L. F. B., Barbosa, F. R., Silva, G., Bitencourt, T. A., Belebony, R. O., Baek, S. J., Marins, M., & Fachin, A. L. (2017). Cytotoxicity of trans-chalcone and licochalcone A against breast cancer cells is due to apoptosis induction and cell cycle arrest. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 85, 425–433.
- Boshra, A. N., Abdu-Allah, H. H. M., Mohammed, A. F., & Hayallah, A. M. (2020). Click chemistry synthesis, biological evaluation and docking study of some novel 2'-hydroxychalcone-triazole hybrids as potent anti-inflammatory agents. In *Bioorganic Chemistry* (Vol. 95). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103505>
- Burmaoglu, S., Algul, O., Anil, D. A., Gobek, A., Duran, G. G., Ersan, R. H., & Duran, N. (2016). Synthesis and anti-proliferative activity of fluoro-substituted chalcones. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 26(13), 3172–3176. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.04.096>
- Burmaoglu, S., Algul, O., Gobek, A., Aktas Anil, D., Ulger, M., Erturk, B. G., Kaplan, E., Dogen, A., & Aslan, G. (2017). Design of potent fluoro-substituted chalcones as antimicrobial agents. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32(1), 490–495. <https://doi.org/10.1080/14756366.2016.1265517>
- Burmaoglu, S., Ozcan, S., Balcioglu, S., Gencel, M., Noma, S. A. A., Essiz, S., Ates, B., & Algul, O. (2019). Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of bis-chalcone derivatives as xanthine oxidase inhibitors and anticancer agents. *Bioorganic Chemistry*, 91(July), 103149.
- Cancino, K., Castro, I., Yauri, C., Jullian, V., Arévalo, J., Sauvain, M., Adaui, V., & Castillo, D. (2021). Toxicity assessment of synthetic chalcones with antileishmanial potential in BALB/c mice. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 38(3), 424–433.

- Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22(2), 5–14.
- Chauhan, S. S., Singh, A. K., Meena, S., Lohani, M., Singh, A., Arya, R. K., Cheruvu, S. H., Sarkar, J., Gayen, J. R., Datta, D., & Chauhan, P. M. S. (2014). Synthesis of novel β -carboline based chalcones with high cytotoxic activity against breast cancer cells. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 24(13), 2820–2824. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.04.109>
- Chlupacova, M. K., Kunes, J., Buchta, V., Vejsova, M., & Opletalova, V. (2015). Novel pyrazine analogs of chalcones: Synthesis and evaluation of their antifungal and antimycobacterial activity. *Molecules*, 20(1), 1104–1117. <https://doi.org/10.3390/molecules20011104>
- Christensen, L. P., Lam, J., & Thomasen, T. (1990). A chalcone and other constituents of *bidens tripartitus*. *Phytochemistry*, 29(10), 3155–3156.
- Cole, A. L., Hossain, S., Cole, A. M., & Phanstiel, O. (2016). Synthesis and bioevaluation of substituted chalcones, coumaranones and other flavonoids as anti-HIV agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 24(12), 2768–2776.
- Custodio, J. M. F., Faria, E. C. M., Sallum, L. O., Duarte, V. S., Vaz, W. F., De Aquino, G. L. B., Carvalho, P. S., & Napolitano, H. B. (2017). The influence of methoxy and ethoxy groups on supramolecular arrangement of two methoxy-chalcones. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 28(11), 2180–2191.
- de Mello, M. V. P., Abrahim-Vieira, B. de A., Domingos, T. F. S., de Jesus, J. B., de Sousa, A. C. C., Rodrigues, C. R., & Souza, A. M. T. de. (2018). A comprehensive review of chalcone derivatives as antileishmanial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 150, 920–929.
- De Toro, G. (2006). Muerte celular programada. Revisión apoptosis y formas alternativas de muerte celular. *VIII Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica*, 3, 1–13.
- dos Santos, M. B., Bertholin Anselmo, D., de Oliveira, J. G., Jardim-Perassi, B. V., Alves Monteiro, D., Silva, G., Gomes, E., Lucia Fachin, A., Marins, M., de Campos Zuccari, D. A. P., & Octavio Regasini, L. (2019). Antiproliferative activity and p53 up regulation effects of chalcones on human breast cancer cells. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34(1), 1093–1099.
- Dubuisson, A., & Micheau, O. (2017). Antibodies and Derivatives Targeting DR4 and DR5 for Cancer Therapy. *Antibodies*, 6(4), 16. <https://doi.org/10.3390/antib6040016>
- Ducki, S., Mackenzie, G., Greedy, B., Armitage, S., Chabert, J. F. D., Bennett, E., Nettles, J., Snyder, J. P., & Lawrence, N. J. (2009). Combretastatin-like chalcones as inhibitors of microtubule polymerisation. Part 2: Structure-based discovery of α -aryl chalcones. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 17(22), 7711–7722.
- Eskander, R. N., Randall, L. M., Sakai, T., Guo, Y., Hoang, B., & Zi, X. (2012). Flavokawain B, a novel, naturally occurring chalcone, exhibits robust apoptotic effects and induces G2/M arrest of a uterine leiomyosarcoma cell line. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 38(8), 1086–1094. <https://doi.org/10.1111/j.1447-0756.2011.01841.x>

- European Collection of Authenticated Cell Cultures. (n.d.). *Cell line profile - MCF-7*. Retrieved January 26, 2021, from <https://admin.phe-culturecollections.org.uk/media/130237/mcf7-cell-line-profile.pdf>
- Feldbaek Nielsen, S., Boesen, T., Larsen, M., Schonning, K., & Kroman, H. (2004). Antibacterial chalcones—bioisosteric replacement of the 4'-hydroxy group. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12(11), 3047–3054.
- García, R., Franklin, R. A., & McCubrey, J. A. (2006). Cell death of MCF-7 human breast cancer cells induced by EGFR activation in the absence of other growth factors. *Cell Cycle*, 5(16), 1840–1846.
- Gilman, G. &. (2018). Las bases farmacológicas de la terapéutica. In M. G. Hill (Ed.), *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica* (13th ed.).
- Ginsburg, O., Bray, F., Coleman, M. P., Vanderpuye, V., Eniu, A., Kotha, R., Sarker, M., Huong, T. T., Allemani, C., Dvaladze, A., Gralow, J., Yeates, K., Taylor, C., Oomman, N., Krishnan, S., Sullivan, R., Kombe, D., Blas, M., Parham, G., ... Conteh, L. (2017). The global burden of women's cancers: an unmet grand challenge in global health Europe PMC Funders Group. *Lancet*, 389(10071), 847–860.
- Goldhirsch, A., Wood, W. C., Coates, A. S., Gelber, R. D., Thürlimann, B., & Senn, H. J. (2011). Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: Highlights of the St Gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2011. *Annals of Oncology*, 22(8), 1736–1747.
- Gomes, M. N., Muratov, E. N., Pereira, M., Peixoto, J. C., Rosseto, L. P., Cravo, P. V. L., Andrade, C. H., & Neves, B. J. (2017). Chalcone derivatives: Promising starting points for drug design. *Molecules*, 22(8). <https://doi.org/10.3390/molecules22081210>
- Guo, X. E., Ngo, B., Modrek, A. S., & Lee, W.-H. (2014). Targeting Tumor Suppressor Networks for Cancer Therapeutics. *Bone*, 15(1), 2–16. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>
- Hagmann, W. K. (2008). The many roles for fluorine in medicinal chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry*, 51(15), 4359–4369. <https://doi.org/10.1021/jm800219f>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Herrera-Rodriguez, L., Khan, F., Robins, K., & Meyer, H. (2011). Perspectives on biotechnological halogenation. *Chimica Oggi / Chemistry Today*, 29, 31–33.
- Hou, Q., Lin, X., Lu, X., Bai, C., Wei, H., Luo, G., & Xiang, H. (2020). Discovery of novel steroidal-chalcone hybrids with potent and selective activity against triple-negative breast cancer. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 28(23), 115763. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115763>
- Hseu, Y.-C., Lin, R.-W., Shen, Y.-C., Lin, K.-Y., Liao, J.-W., Thiagarajan, V., & Yang, H.-L. (2020). Flavokawain B and Doxorubicin Work Synergistically. *Cancers*, 12(09), 2475.

- Insuasty- Obando, B. (2016). Las chalconas y su uso como precursores en la síntesis de compuestos heterocíclicos nitrogenados. *Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 40(155), 234. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.309>
- International Agency for Research on Cancer, (IARC). (2018). GLOBOCAN 2018: Latest global cancer data. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, September, 13–15.
- Janković, T., Turković, N., Kotur-Stevuljević, J., Vujić, Z., & Ivković, B. (2020). Differences in antioxidant potential of chalcones in human serum: In vitro study. *Chemico-Biological Interactions*, 324, 109084.
- Jiang, T. F., Lv, Z. H., & Wang, Y. H. (2005). Separation and determination of chalcones from *Carthamus tinctorius* L. and its medicinal preparation by capillary zone electrophoresis. *Journal of Separation Science*, 28(11), 1244–1247.
- Kabała-Dzik, A., Rzepecka-Stojko, A., Kubina, R., Iriti, M., Wojtyczka, R. D., Buszman, E., & Stojko, J. (2018). Flavonoids, bioactive components of propolis, exhibit cytotoxic activity and induce cell cycle arrest and apoptosis in human breast cancer cells MDA-MB-231 and MCF-7 – a comparative study. *CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY*.
- Karthikeyan, C., Narayana Moorthy, N. S. H., Ramasamy, S., Vanam, U., Manivannan, E., Karunakaran, D., & Trivedi, P. (2014). Advances in Chalcones with Anticancer Activities. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*, 10(1), 97–115. <https://doi.org/10.2174/1574892809666140819153902>
- Kučerová-Chlupáčová, M., Opletalová, V., Jampílek, J., Doležel, J., Dohnal, J., Pour, M., Kuneš, J., & Voříšek, V. (2008). New hydrophobicity constants of substituents in pyrazine rings derived from RP-HPLC study. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 73(1), 1–18.
- Kucerova-Chlupacova, M., Vyskovska-Tyllova, V., Richterova-Finkova, L., Kunes, J., Buchta, V., Vejsova, M., Paterova, P., Semelkova, L., Jandourek, O., & Opletalova, V. (2016). Novel halogenated pyrazine-based chalcones as potential antimicrobial drugs. *Molecules*, 21(11), 1–16.
- Kuo, Y. F., Su, Y. Z., Tseng, Y. H., Wang, S. Y., Wang, H. M., & Chueh, P. J. (2010). Flavokawain B, a novel chalcone from *Alpinia pricei* Hayata with potent apoptotic activity: Involvement of ROS and GADD153 upstream of mitochondria-dependent apoptosis in HCT116 cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(2), 214–226. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.04.005>
- Liao, N. C., Shih, Y. L., Chou, J. S., Chen, K. W., Chen, Y. L., Lee, M. H., Peng, S. F., Leu, S. J., & Chung, J. G. (2019). Cardamonin induces cell cycle arrest, apoptosis and alters apoptosis associated gene expression in WEHI-3 mouse leukemia cells. *American Journal of Chinese Medicine*, 47(3), 635–656.
- López, S. (2015). Grupo pentafluorosulfanilo (-SF5): ¿un nuevo bioisómero del grupo trifluorometilo (-CF3)? *Revista de La Facultad de Farmacia*, 77(1y2), 54–64.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Boil. Chem.*, 193, 265–275.

- M Dewick, P. (2002). Medicinal Natural Products. In *Pharmaceutical Sciences* (Vol. 0471496405). <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2010.01.005>
- Mahapatra, D. K., Bharti, S. K., & Asati, V. (2015). Anti-cancer chalcones: Structural and molecular target perspectives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 98, 69–114.
- Mahapatra, D. K., Bharti, S. K., & Asati, V. (2017). Chalcone Derivatives: Anti-inflammatory Potential and Molecular Targets Perspectives. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 17(28).
- Mai, C. W., Yaeghoobi, M., Abd-Rahman, N., Kang, Y. B., & Pichika, M. R. (2014). Chalcones with electron-withdrawing and electron-donating substituents: Anticancer activity against TRAIL resistant cancer cells, structure-activity relationship analysis and regulation of apoptotic proteins. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 77, 378–387.
- Manna, T., Pal, K., Jana, K., & Misra, A. K. (2019). Anti-cancer potential of novel glycosylated 1,4-substituted triazolylchalcone derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 29(19), 126615. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.08.019>
- Matassov, D., Kagan, T., Leblanc, J., Sikorska, M., Zakeri, Z., Kumar, S., & Williams, O. (2004). Apoptosis Methods and Protocols. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 282).
- Meza-Junco, J., Montañó-Loza, A., & Aguayo-González, Á. (2006). Bases Moleculares Del Cancer. *Revista de Investigación Clínica*, 58(1), 56–70.
- Mohamed, M. F., Hassaneen, H. M., & Abdelhamid, I. A. (2018). Cytotoxicity, molecular modeling, cell cycle arrest, and apoptotic induction induced by novel tetrahydro-[1,2,4]triazolo[3,4-a]isoquinoline chalcones. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 143, 532–541.
- Mullane, S. A., & Van Allen, E. M. (2016). Precision medicine for advanced prostate cancer. *Current Opinion in Urology*, 26(3), 231–239. <https://doi.org/10.1097/MOU.0000000000000278>
- Nurgali, K., Jagoe, R. T., & Abalo, R. (2018). Editorial: Adverse effects of cancer chemotherapy: Anything new to improve tolerance and reduce sequelae? *Frontiers in Pharmacology*, 9(MAR), 1–3.
- Omar, A. M., Alswah, M., Ahmed, H. E. A., Bayoumi, A. H., El-Gamal, K. M., El-Morsy, A., Ghiaty, A., Afifi, T. H., Sherbiny, F. F., Mohammed, A. S., & Mansour, B. A. (2020). Antimicrobial screening and pharmacokinetic profiling of novel phenyl-[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinoxaline analogues targeting DHFR and E. coli DNA gyrase B. *Bioorganic Chemistry*, 96, 103656. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103656>
- OMS. (2007). *Control del cáncer: aplicación de los conocimientos; guía de la OMS para desarrollar programas eficaces; módulo 2*. 57.
- OMS. (2017). *Cáncer*. WHO; World Health Organization. <https://www.who.int/topics/cancer/es/>
- Orlikova, B., Tasdemir, D., Golais, F., Dicato, M., & Diederich, M. (2011). Dietary chalcones with chemopreventive and chemotherapeutic potential. *Genes and Nutrition*, 6(2), 125–147. <https://doi.org/10.1007/s12263-011-0210-5>

- Peerzada, M. N., Khan, P., Ahmad, K., Hassan, M. I., & Azam, A. (2018). Synthesis, characterization and biological evaluation of tertiary sulfonamide derivatives of pyridyl-indole based heteroaryl chalcone as potential carbonic anhydrase IX inhibitors and anticancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 155, 13–23. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.05.034>
- Pereyra-Vergara, F., Olivares-Corichi, I. M., Perez-Ruiz, A. G., Luna-Arias, J. P., & García-Sánchez, J. R. (2020). Apoptosis induced by (–)-epicatechin in human breast cancer cells is mediated by reactive oxygen species. *Molecules*, 25(5), 1–13.
- Ponce, M. B., Gandarilla, A. D., Rodríguez, E. T., & Peña, D. (2016). Actividad antibacteriana in vitro de nuevas chalconas halogenadas. *Química Viva*, 15(2), 17–28.
- Racca, F., Morales-barrera, R., Suárez, C., Serrano, C., Valverde, C., & Carles, J. (2018). Vías de señalización del cáncer: oncogenes. *Revista Nefrología*, 9(1), 2–5.
- Reynoso-Noverón, N., Torres-Domínguez, J. A., Morales-Juárez, L., & Mohar-Betancourt, A. (2023). Análisis de la mortalidad por cáncer en México utilizando los resultados del Global Burden of Disease 2021. *Gaceta Medica de Mexico*, 159(6), 574–581. <https://doi.org/10.24875/GMM.M24000833>
- Rodríguez Fragosó, L., Hernández Baltasar, E., & Reyes Esparza, J. A. (2004). El ciclo celular: Características, regulación e importancia en el cáncer. *Biotecnología Aplicada*, 21(2), 60–69.
- Saavedra, E., Del Rosario, H., Brouard, I., Hernández-Garcés, J., García, C., Quintana, J., & Estévez, F. (2020). The synthetic flavanone 6-methoxy-2-(naphthalen-1-yl)chroman-4-one induces apoptosis and activation of the MAPK pathway in human U-937 leukaemia cells. *Bioorganic Chemistry*, 94(June), 103450. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103450>
- Sanz-Barbero, B., Prieto-Flores, M. E., Otero-García, L., Abt-Sacks, A., Bernal, M., & Cambas, N. (2014). Percepción de los factores de riesgo de cáncer por la población española. *Gaceta Sanitaria*, 28(2), 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.gaceta.2013.10.008>
- Sathiyamoorthi, K., Mala, V., Sakthinathan, S. P., Kamalakkannan, D., Suresh, R., Vanangamudi, G., & Thirunarayanan, G. (2013). Solvent-free synthesis, spectral correlations and antimicrobial activities of some aryl e 2-propen-1-ones. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 112, 245–256. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.04.048>
- Schlitt, A., Jordan, K., Vordermark, D., Schwamborn, J., Langer, T., & Thomssen, C. (2014). Cardiotoxicity and Oncological Treatments. *Deutsches Arzteblatt International*, 111(10), 161–168. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2014.0161>
- Semina, S. E., Scherbakov, A. M., Kovalev, S. V., & Shevchenko & M, V. E. A. (2017). Cancer Investigation Horizontal Transfer of Tamoxifen Resistance in MCF-7 Cell Derivates: Proteome Study Horizontal Transfer of Tamoxifen Resistance in MCF-7 Cell Derivates: Proteome Study. *CANCER INVESTIGATION* 2017, 35(8), 506–518. <https://doi.org/10.1080/07357907.2017.1368081>

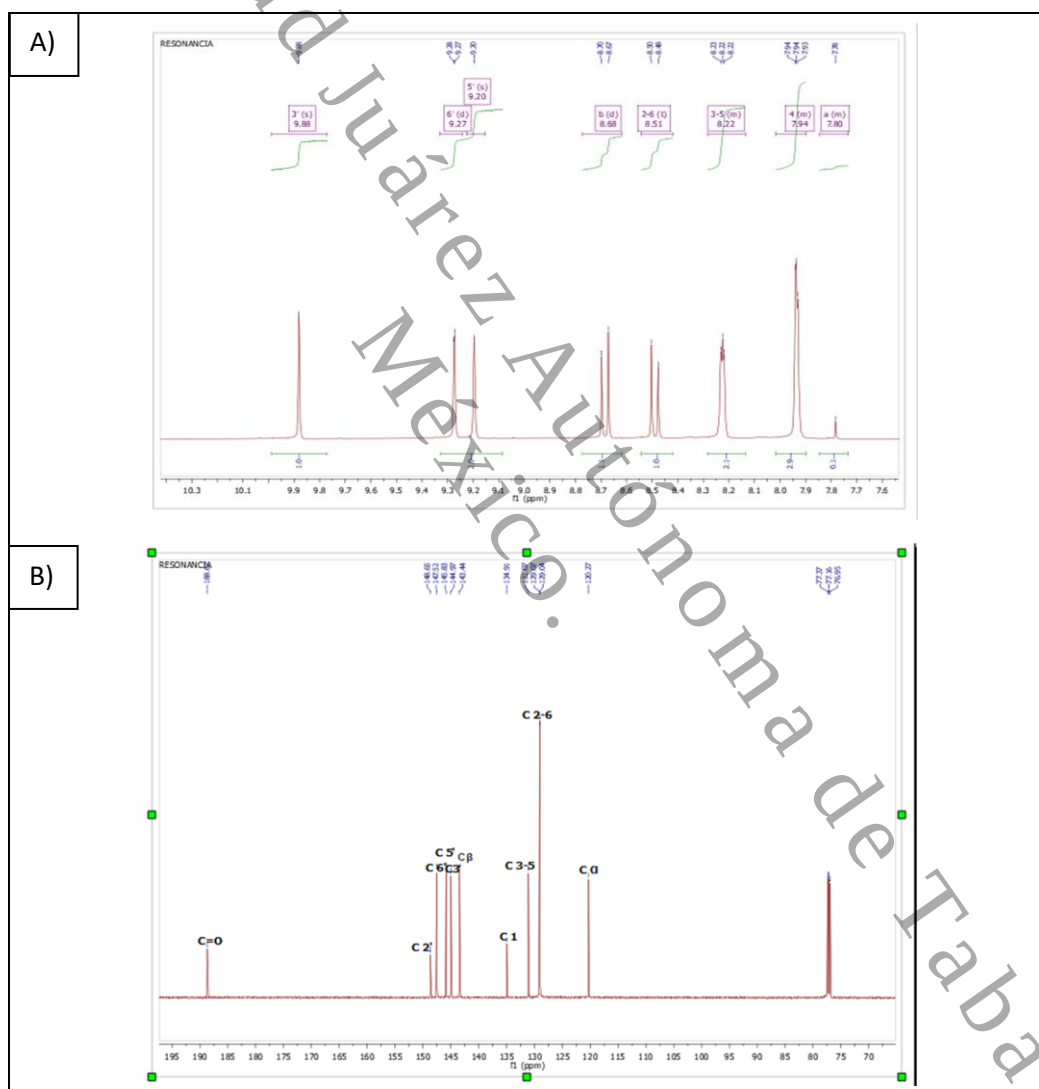
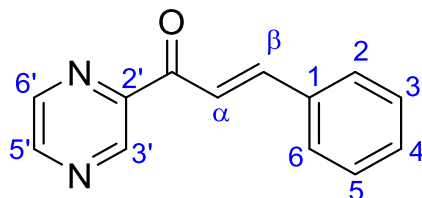
- Shukla, S., Sood, A. K., Goyal, K., Singh, A., Sharma, V., Guliya, N., Gulati, S., & Kumar, S. (2020). Chalcone Scaffolds as Anticancer Drugs: A Review on Molecular Insight in Action of Mechanisms and Anticancer Properties. *Anticancer Agents Med Chem*, 21(13).
- Srinivasan, B., Johnson, T. E., Lad, R., & Xing, C. (2009). Structure - Activity relationship studies of chalcone leading to 3-hydroxy-4,3',4',5'-tetramethoxychalcone and its analogues as potent nuclear factor κ B inhibitors and their anticancer activities. *Journal of Medicinal Chemistry*, 52(22), 7228–7235. <https://doi.org/10.1021/jm901278z>
- Stepanić, V., Matijašić, M., Horvat, T., Verbanac, D., Chlupáčová, M. K., Saso, L., & Žarković, N. (2019). Antioxidant activities of alkyl substituted pyrazine derivatives of chalcones—In vitro and in silico study. *Antioxidants*, 8(4).
- Swallow, S. (2015). Fluorine in medicinal chemistry. In *Progress in Medicinal Chemistry* (1st ed., Vol. 54). Elsevier B.V.
- Szliszka, E., Jaworska, D., Kłósek, M., Czuba, Z. P., & Król, W. (2012). Targeting death receptor TRAIL-R2 by chalcones for TRAIL-induced apoptosis in cancer cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(11), 15343–15359.
- Torres-Sauret, Q., Sánchez, A., Fuente, R. De, Montero, P., Dorante, F., Teresa, M., Carmen, J., Reyes, V., & Ángel, M. (2017). Síntesis de (E)-1,3-difenil-prop-2-en-1-ona y su evaluación sobre el crecimiento de una cepa de *S. aureus* fármacorresistente. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 48(3), 67–74.
- Tsai, J. P., Lee, C. H., Ying, T. H., Lin, C. L., Lin, C. L., Hsueh, J. T., & Hsieh, Y. H. (2015). Licochalcone A induces autophagy through PI3K/Akt/mTOR inactivation and autophagy suppression enhances Licochalcone A-induced apoptosis of human cervical cancer cells. *Oncotarget*, 6(30), 28851–28866. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4767>
- Vázquez-Ortíz, G., Piña-Sánchez, P., Hidalgo, A., Lazos, M., Moreno, J., Alvarado, I., Cruz, F., Hernández, D. M., Pérez-Plascencia, C., & Salcedo, M. (2005). Análisis de expresión global del cáncer cérvico uterino: rutas metabólicas y genes alterados. *Revista de Investigación Clínica*, 57(3), 434–441.
- Véras, J. H., do Vale, C. R., da Silva Lima, D. C., dos Anjos, M. M., Bernardes, A., de Moraes Filho, A. V., e Silva, C. R., de Oliveira, G. R., Pérez, C. N., & Chen-Chen, L. (2020). Modulating effect of a hydroxychalcone and a novel coumarin–chalcone hybrid against mitomycin-induced genotoxicity in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Drug and Chemical Toxicology*, 0(0), 1–10.
- Wan, M., Xu, L., Hua, L., Li, A., Li, S., Lu, W., Pang, Y., Cao, C., Liu, X., & Jiao, P. (2014). Synthesis and evaluation of novel isoxazolyl chalcones as potential anticancer agents. *Bioorganic Chemistry*, 54, 38–43.
- Wang, Y., Hedblom, A., Koerner, S. K., Li, M., Jernigan, F. E., Wegiel, B., & Sun, L. (2016). Novel synthetic chalcones induce apoptosis in the A549 non-small cell lung cancer cells harboring a

-
- KRAS mutation. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 26(23), 5703–5706.
<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.10.063>
- Welsh, J. E. (2013). Animal Models for Studying Prevention and Treatment of Breast Cancer. In *Animal Models for the Study of Human Disease*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415894-8.00040-3>
- Wong, R. S. Y. (2011). Apoptosis in cancer: From pathogenesis to treatment. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 30(1), 87. <https://doi.org/10.1186/1756-9966-30-87>
- Xu, M., Wu, P., Shen, F., Ji, J., & Rakesh, K. P. (2019). Chalcone derivatives and their antibacterial activities: Current development. *Bioorganic Chemistry*, 91(June), 103133.
- Yao, H., He, G., Yan, S., Chen, C., Song, L., Rosol, T. J., & Deng, X. (2017). Triple-negative breast cancer: Is there a treatment on the horizon? *Oncotarget*, 8(1), 1913–1924.
- You, Y., Bi, F. F., Jiang, Y., Xu, Y. T., An, Y. Y., Li, D., & Yang, Q. (2019). BRCA1 affects the resistance and stemness of SKOV3-derived ovarian cancer stem cells by regulating autophagy. *Cancer Medicine*, 8(2), 656–668.
- Yuan, P., Xu, B., Wang, C., Zhang, C., Sun, M., & Yuan, L. (2016). Ki-67 expression in luminal type breast cancer and its association with the clinicopathology of the cancer. *Oncology Letters*, 11(3), 2101–2105. <https://doi.org/10.3892/ol.2016.4199>
- Zhang, J., Fu, X. L., Yang, N., & Wang, Q. A. (2013). Synthesis and cytotoxicity of chalcones and 5-deoxyflavonoids. *The Scientific World Journal*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/649485>
- Zhang, J. H., & Xu, M. (2000). DNA fragmentation in apoptosis. *Cell Research*, 10(3), 205–211.
- Zhao, Z. X., Jin, J., Lin, C. Z., Zhu, C. C., Liu, Y. M., Lin, A. H., Liu, Y. X., Zhang, L., & Luo, H. F. (2011). Two new chalcone glycosides from the stems of *Entada phaseoloides*. *Fitoterapia*, 82(7), 1102–1105.
- Zhuang, C., Zhang, W., Sheng, C., Zhang, W., Xing, C., & Miao, Z. (2017). Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. *Chem Rev*, 117(12), 7762–7810.

ANEXOS

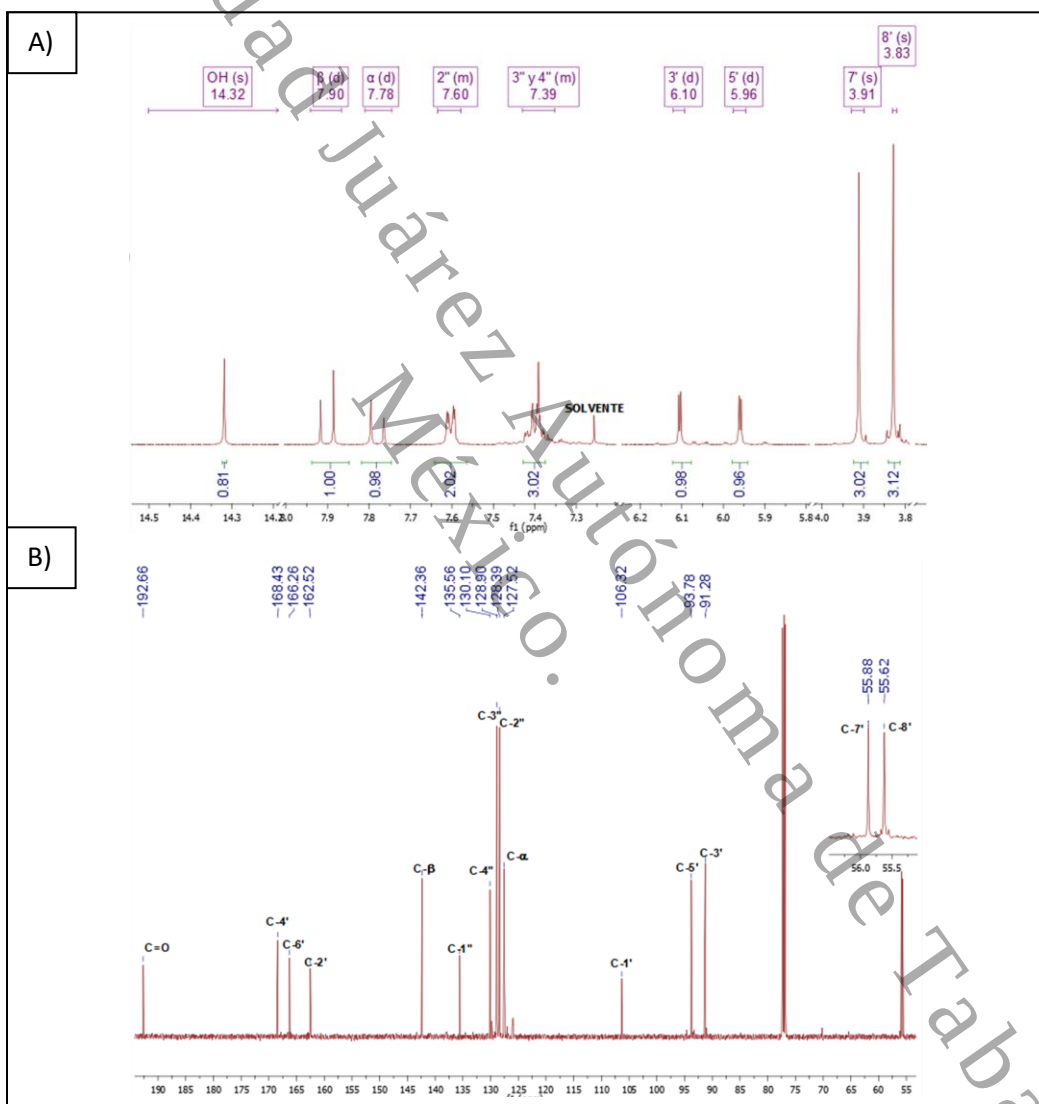
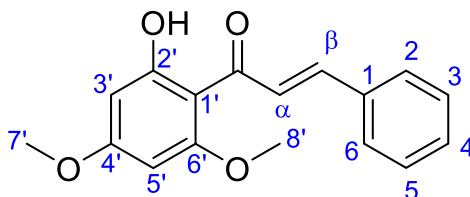
ANEXO 1

(E)-3-fenil-1-(2-pirazinil)-prop-2-en-1-ona (Chalcona 1)



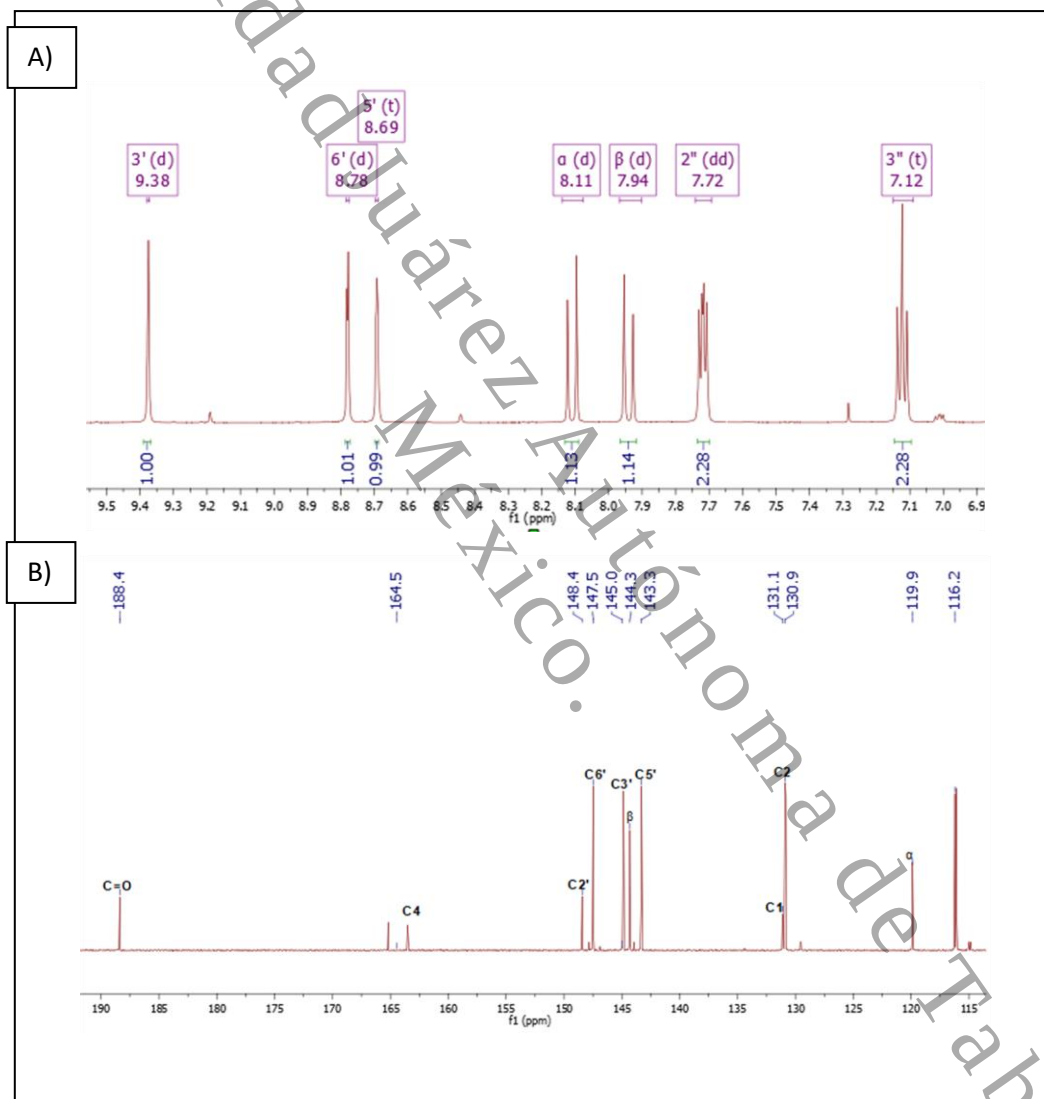
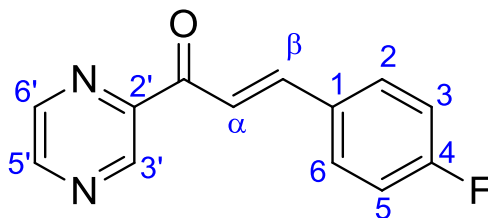
Espectros de Resonancia Magnetica Nuclear de la chalcona 1. A) Espectro de ^1H y B) Espectro de ^{13}C .

(E)-3-fenil-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil)-prop-2-en-1-ona (Chalcona 2)



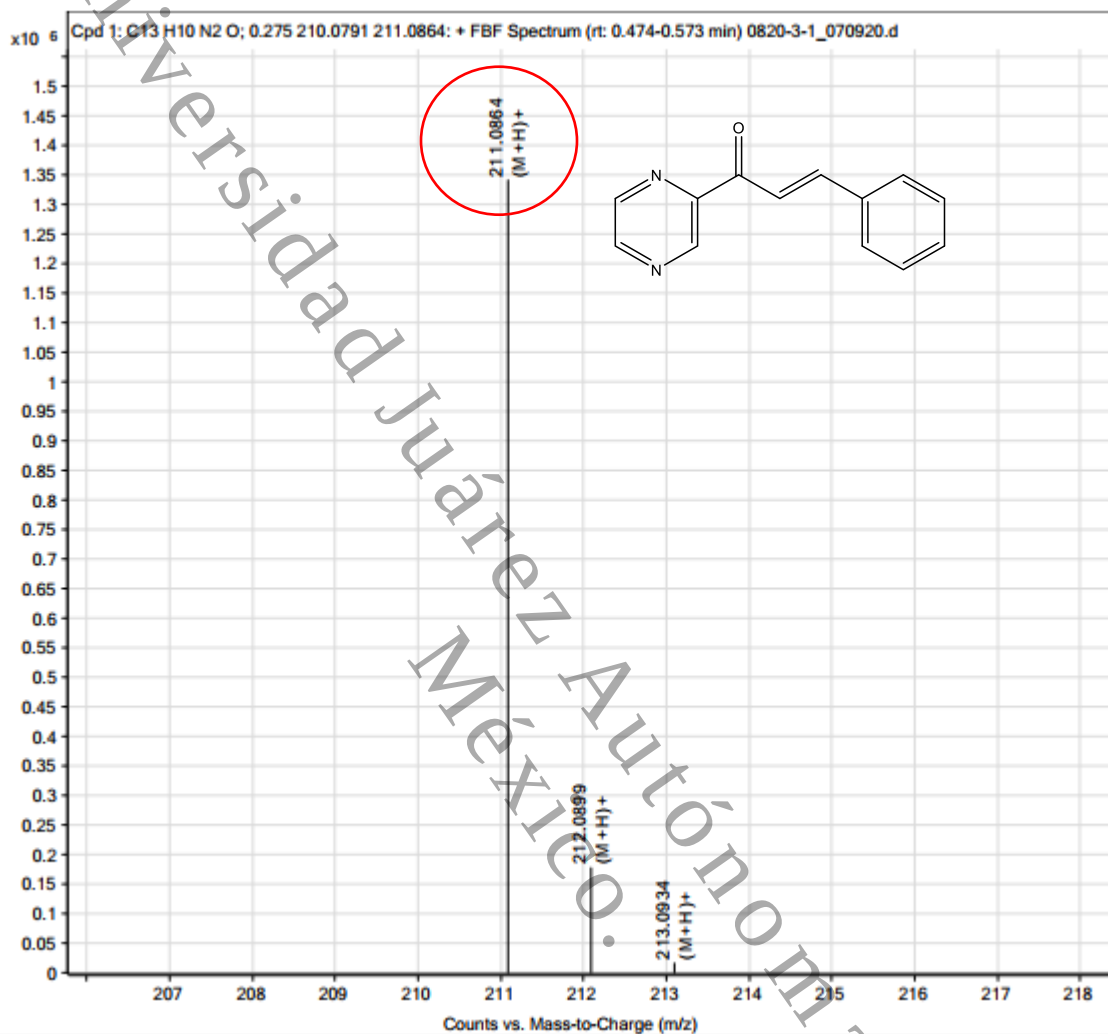
Espectros de Resonancia Magnetica Nuclear de la chalcona 2. A) Espectro de ^1H y B) Espectro de ^{13}C .

Chalcona 3.- (E)-3-(4-fluorofenil)-1-(2-pirazinil)-prop-2-en-1-ona (Chalcona 3)

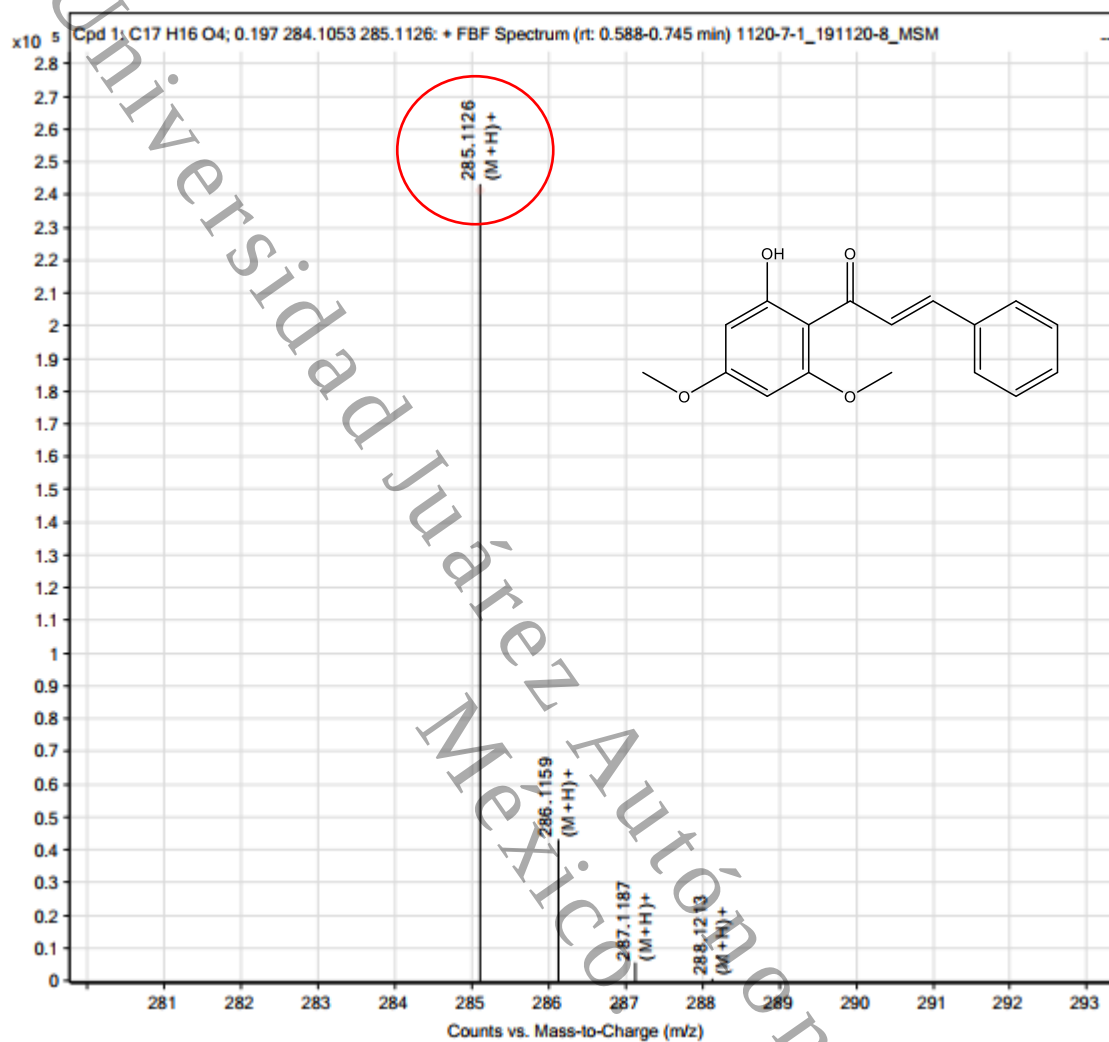


Espectros de Resonancia Magnetica Nuclear de la chalcona 3. A) Espectro de ^1H y B) Espectro de ^{13}C .

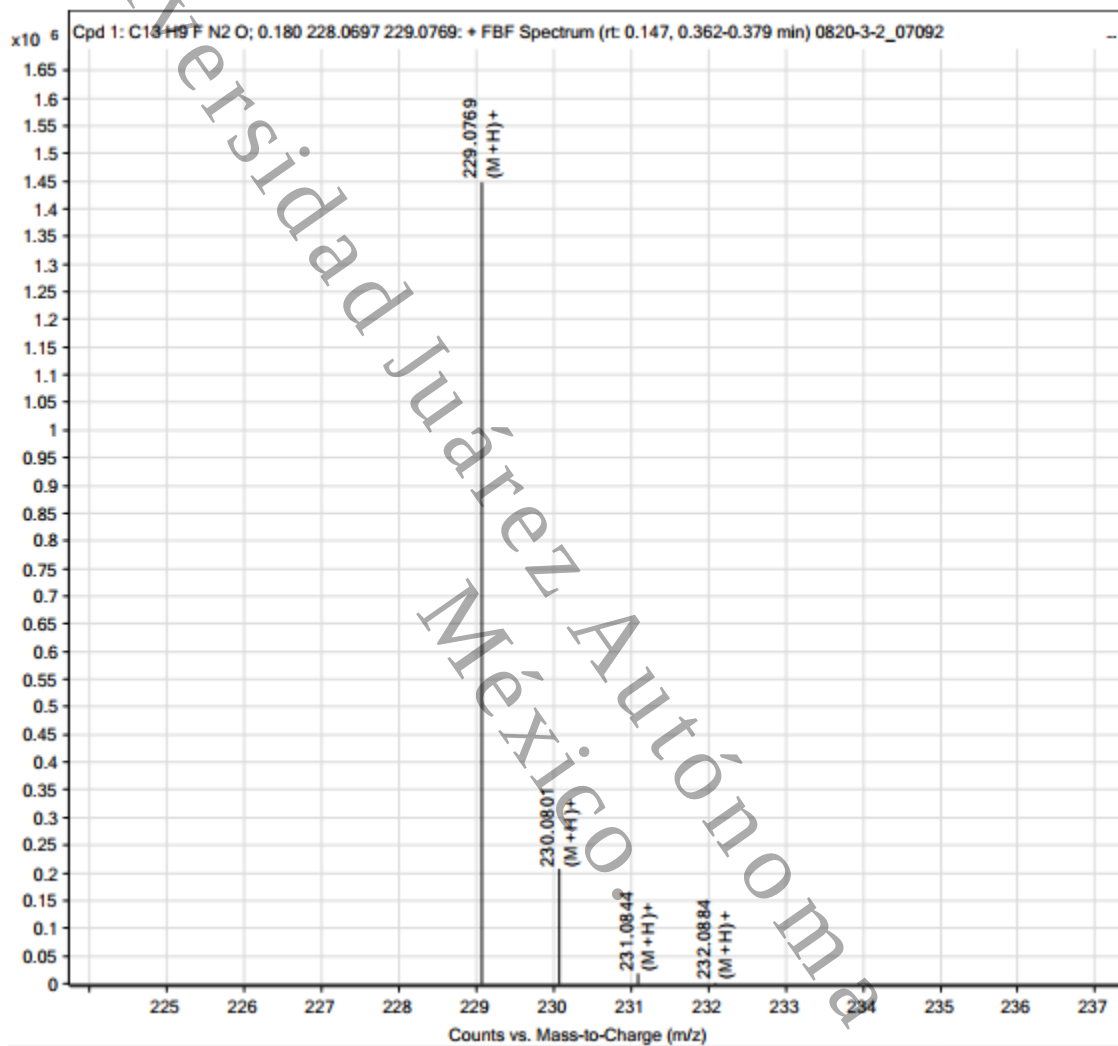
ANEXO 2



Cromatograma de la chalcona 1 en modo scan y espectros de masas de los estándares de conjugación con voltaje de fragmentación de 100 v.

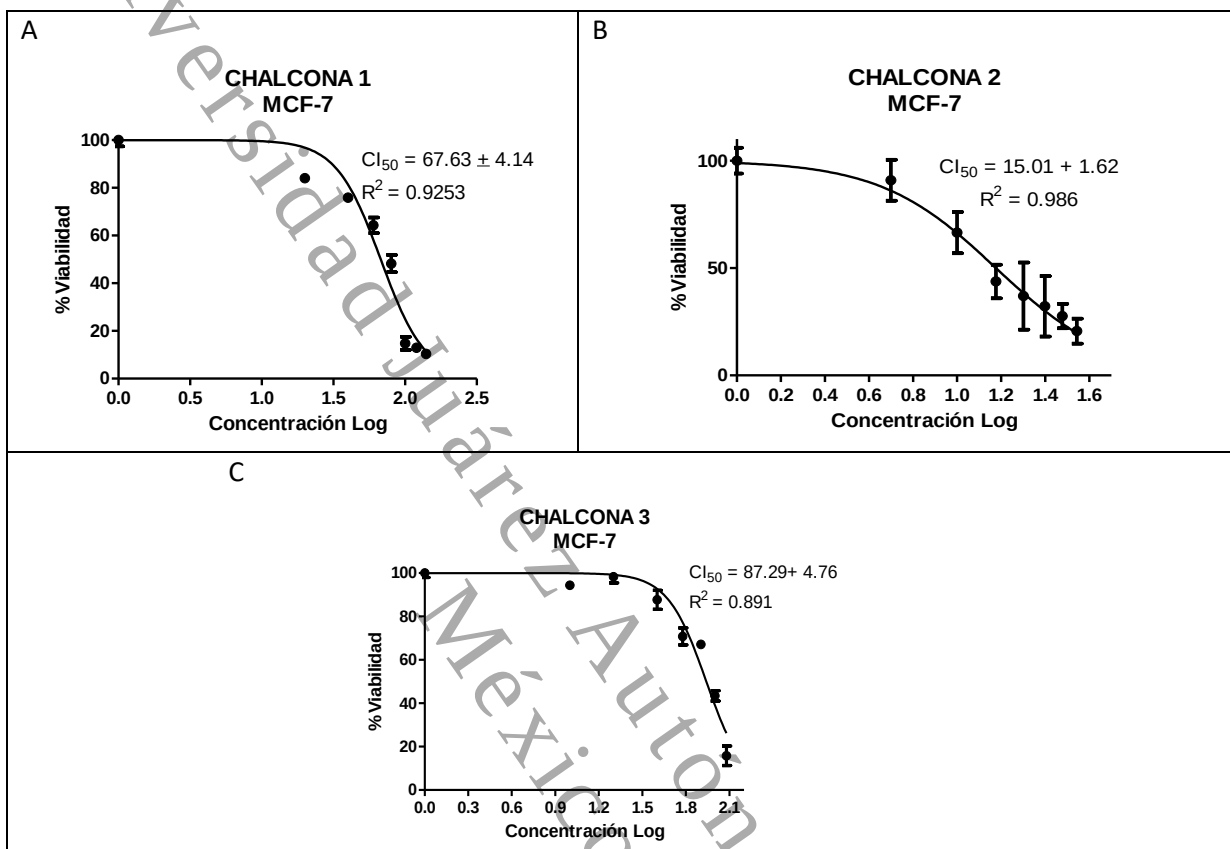


Cromatograma de la chalcona 2 en modo scan y espectros de masas de los estándares de conjugación con voltaje de fragmentación de 100 v.



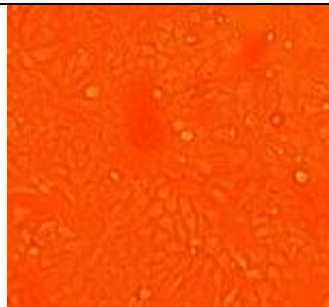
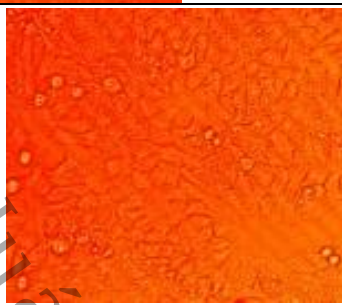
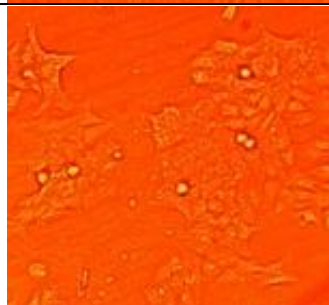
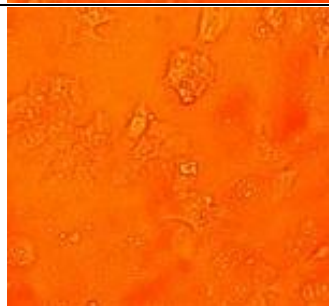
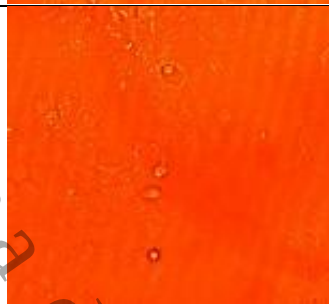
Cromatograma de la chalcona 3 en modo scan y espectros de masas de los estándares de conjugación con voltaje de fragmentación de 100 v.

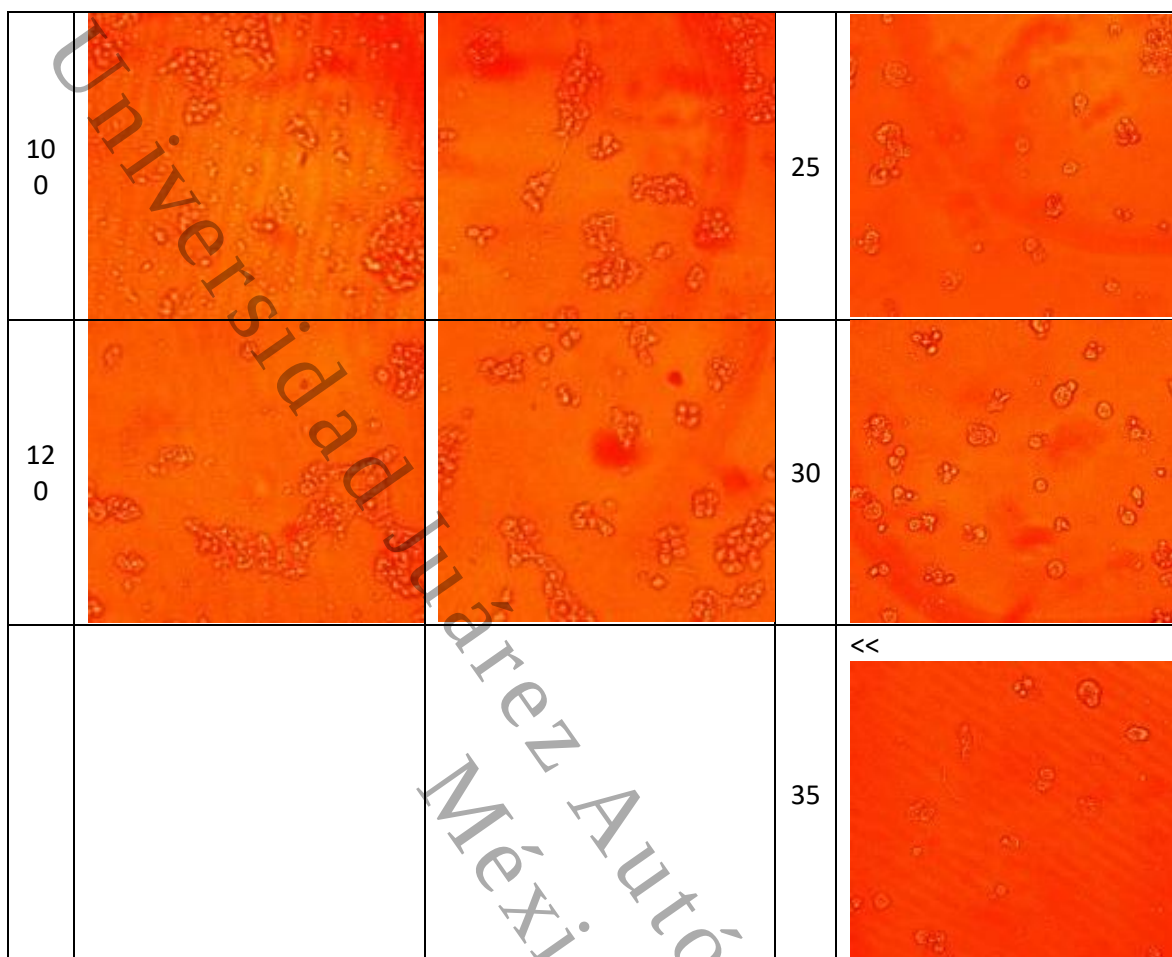
ANEXO 3



Datos transformados a logaritmo para cálculo de la CI_{50} en la línea celular MCF-7. A) Curva logarítmica de concentración con respecto al % viabilidad celular de la chalcona 1. B) Curva logarítmica de concentración con respecto al % viabilidad celular de la chalcona 2. C) Curva logarítmica de concentración con respecto al % viabilidad celular de la chalcona 3.- Control: DMSO (vehículo de las chalconas). Los datos graficados son expresados como el promedio + DE. Los ensayos se realizaron por triplicado con seis repeticiones cada experimento.

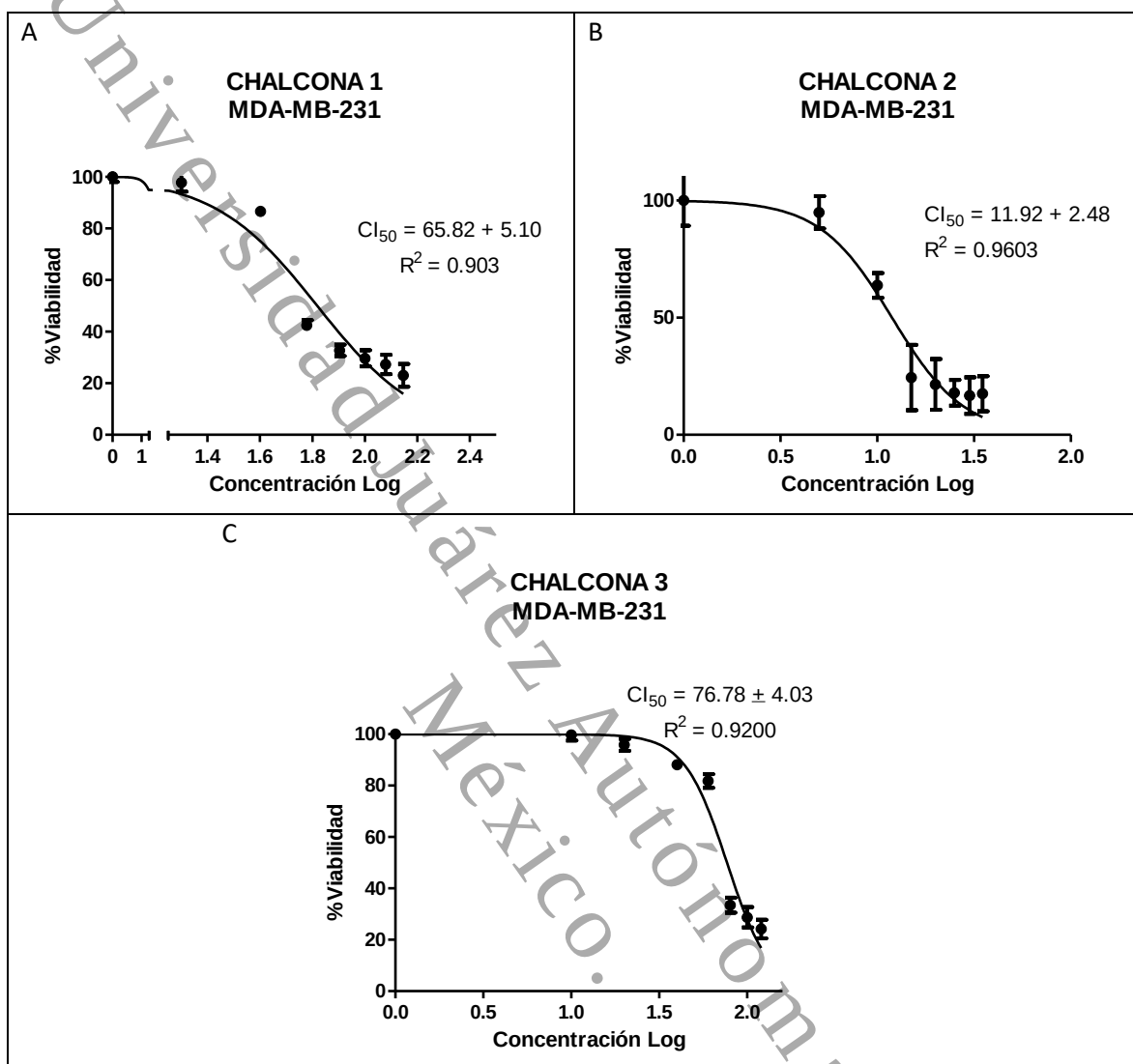
MCF-7				
Con c	CHALCONA 1	CHALCONA 3	Con c	CHALCONA 2

Control				
20			5	
40			10	
60			15	
80			20	

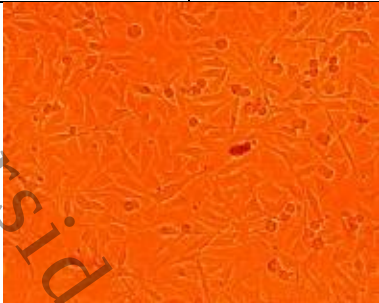
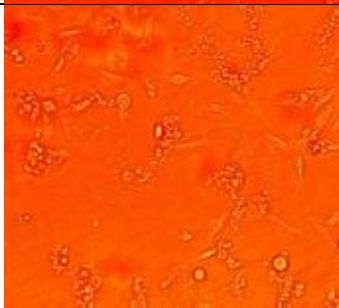
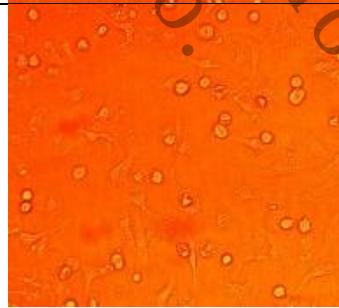
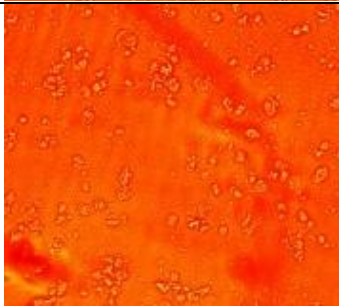


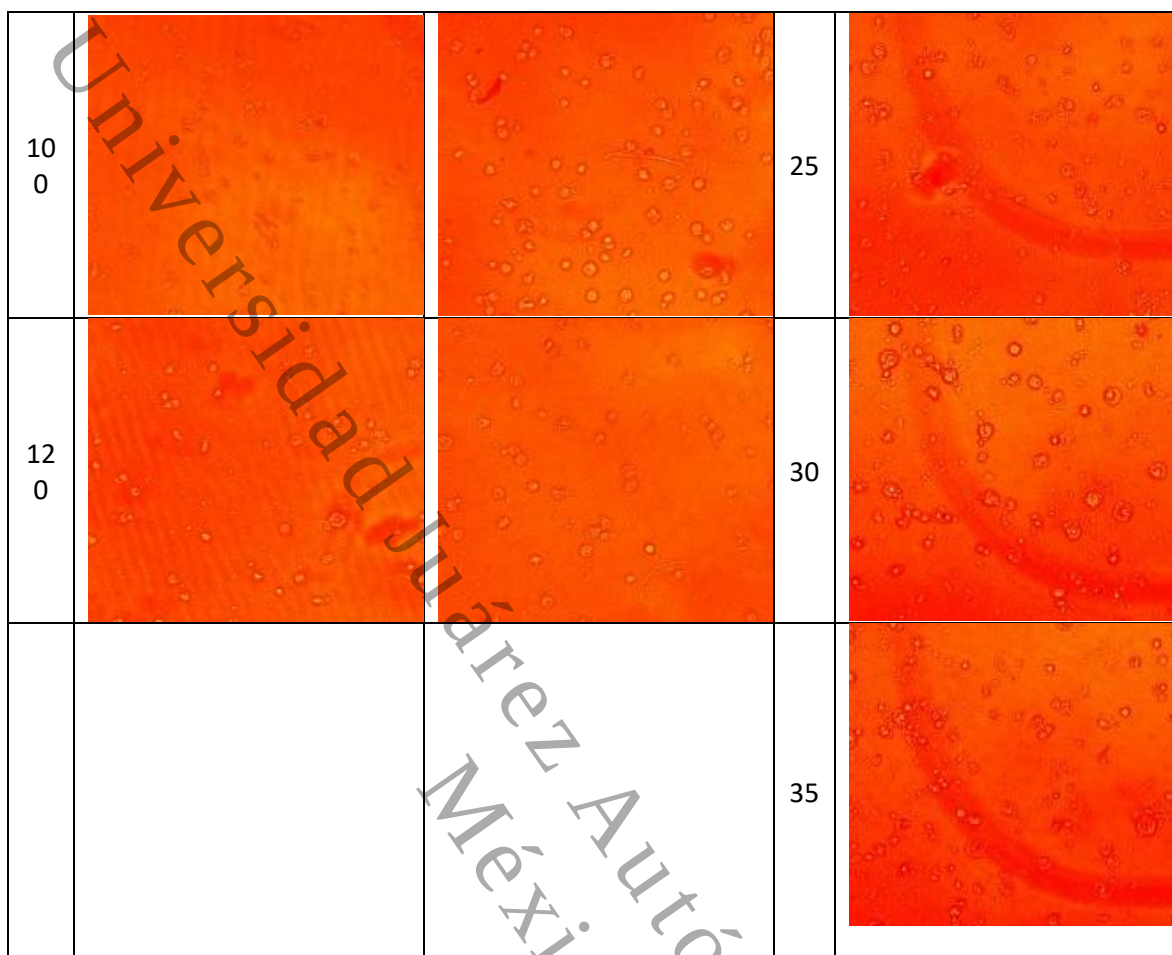
Fotografías de la actividad antiproliferativa de las chalconas 1, 2 y 3 en la línea celular MCF-7 proveniente de cáncer de mama después de 72 horas de tratamiento. Concentraciones de la chalcona 1 y 3 (0, 20, 40, 60, 80, 100 y 120 μM). Concentraciones de la chalcona 2 (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 μM).

ANEXO 4



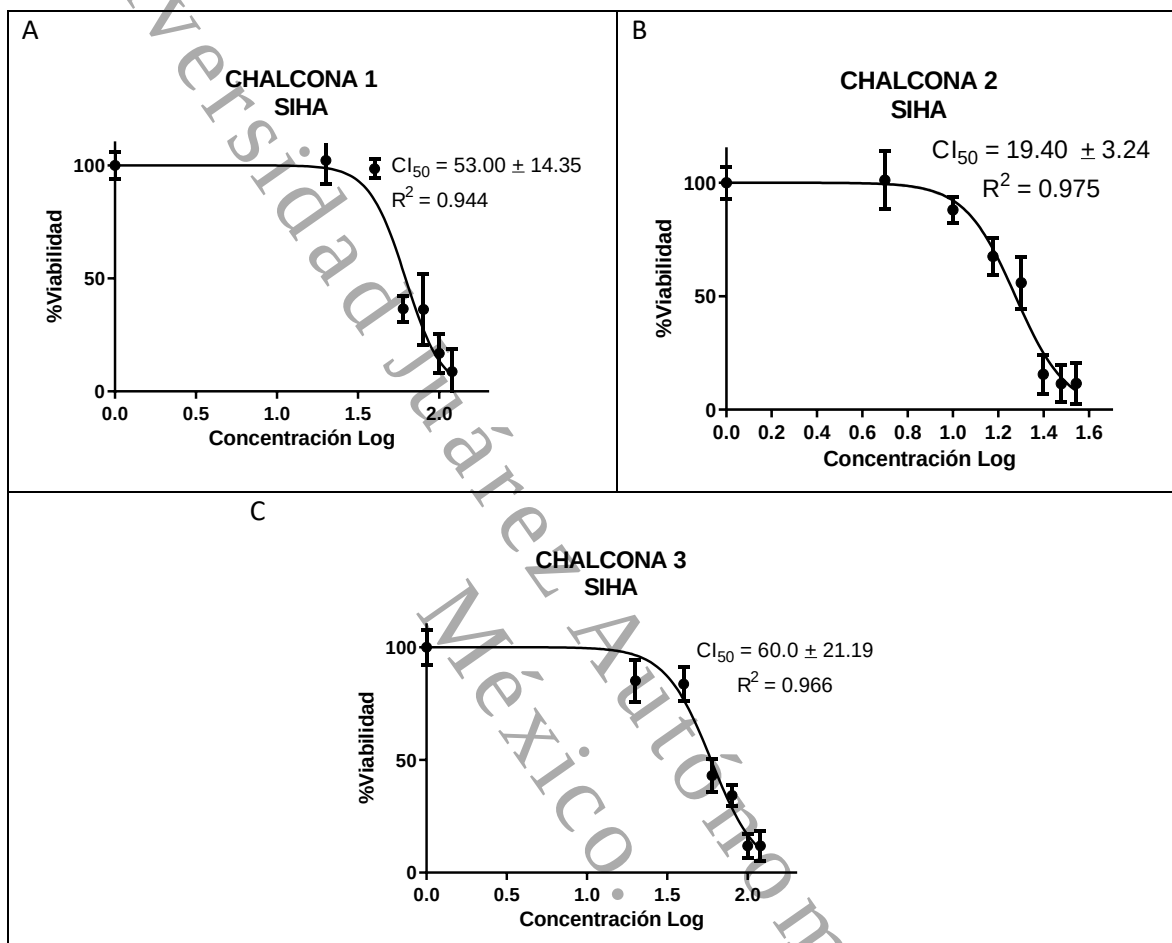
Datos transformados a logaritmo para cálculo de la CI_{50} en la línea celular MDA-MB-231. A) Curva logarítmica de concentración con respecto al % viabilidad celular de la chalcona 1. B) Curva logarítmica de concentración con respecto al % viabilidad celular de la chalcona 2. C) Curva logarítmica de concentración con respecto al % viabilidad celular de la chalcona 3.- Control: DMSO. Los datos graficados son expresados como el promedio + DE. Los ensayos se realizaron triplicado con seis repeticiones cada experimento.

MDA-MB-231							
Con c	CHALCONA 1		CHALCONA 3		Con c	CHALCONA 2	
Control					Control		
20					5		
40					10		
60					15		
80					20		



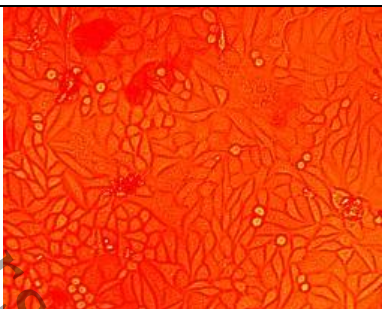
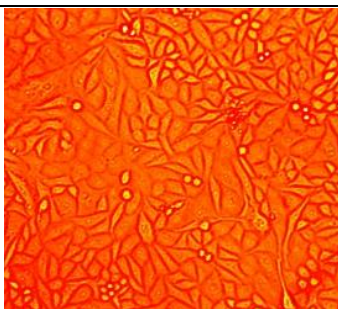
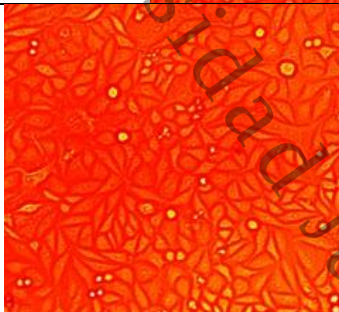
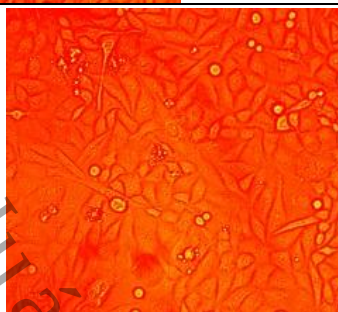
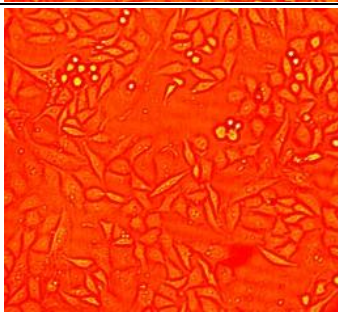
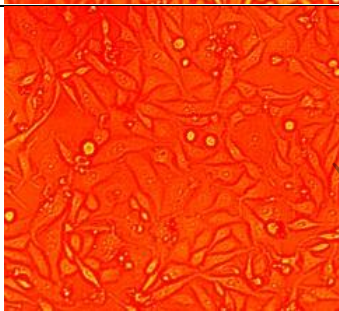
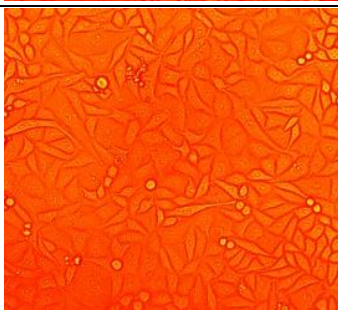
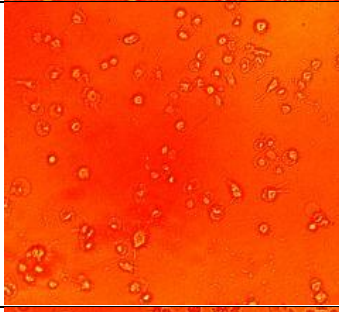
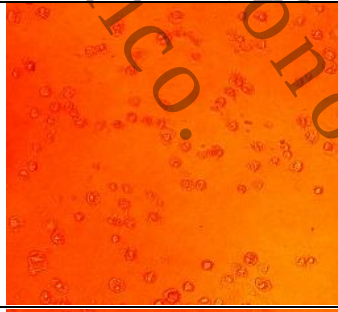
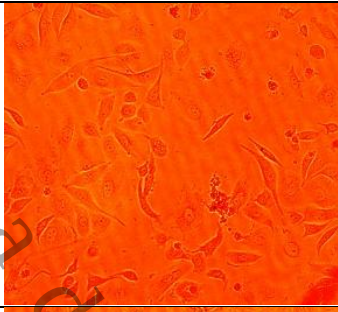
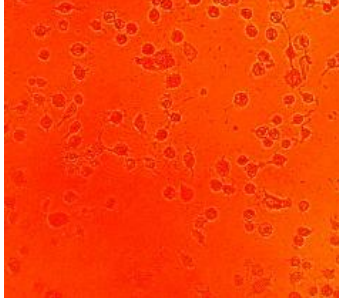
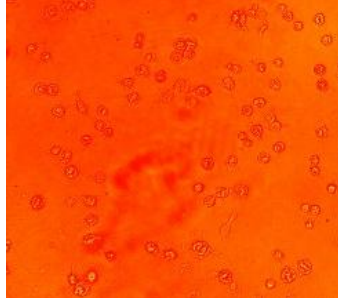
Fotografías de la actividad antiproliferativa de las chalconas 1, 2 y 3 en la línea celular MDA-MB-231 proveniente de cáncer de mama después de 72 horas de tratamiento. Concentraciones de la chalcona 1 y 3 (0, 20, 40, 60, 80, 100 y 120 μM). Concentraciones de la chalcona 2 (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 μM).

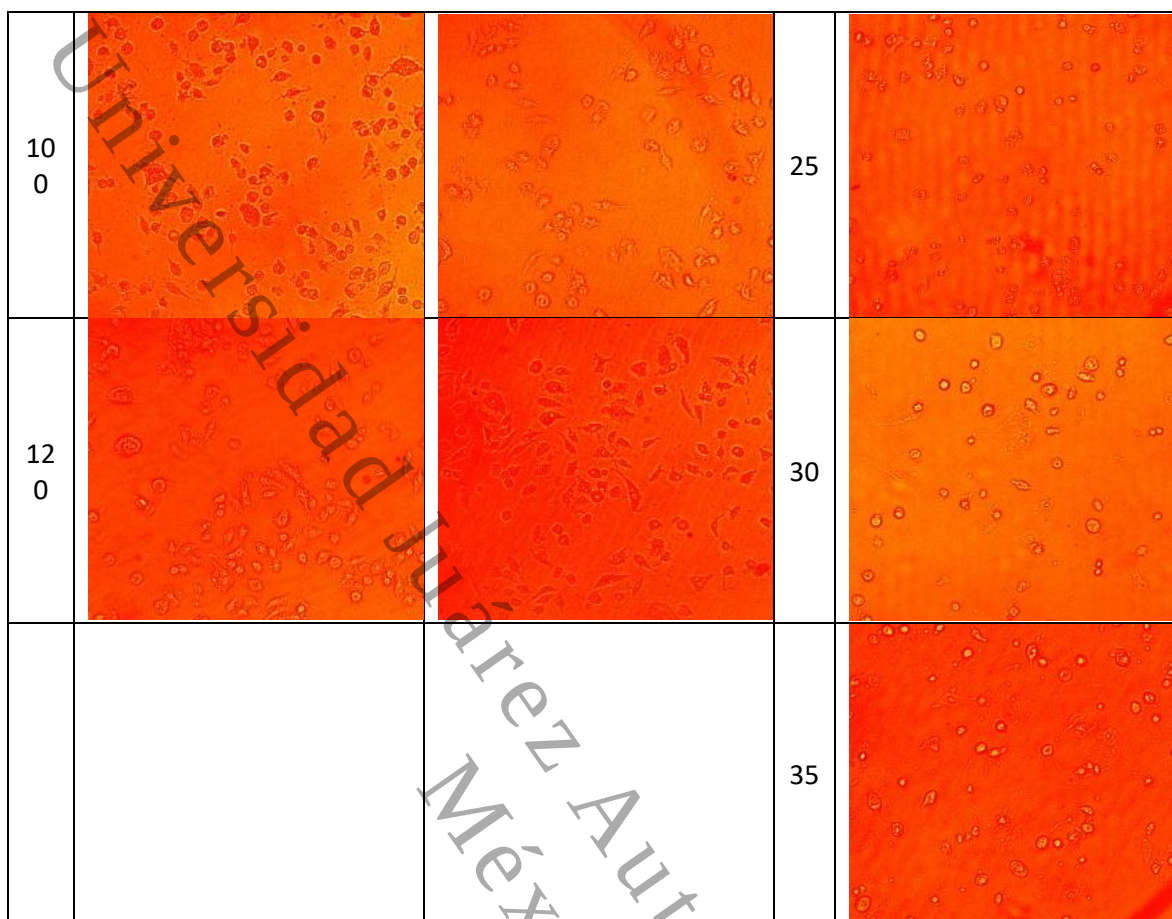
ANEXO 5



Datos transformados a logaritmo para cálculo de la CI_{50} en la línea celular SIHa. A) Curva logarítmica de concentración con respecto al % viabilidad celular de la chalcona 1. B) Curva logarítmica de concentración con respecto al % viabilidad celular de la chalcona 2. C) Curva logarítmica de concentración con respecto al % viabilidad celular de la chalcona 3.- Control: DMSO. Los datos graficados son expresados como el promedio + DE. Los ensayos se realizaron triplicado con seis repeticiones cada experimento.

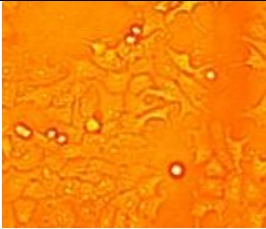
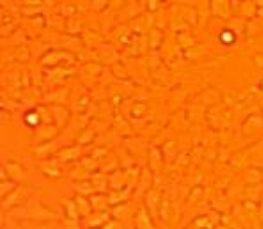
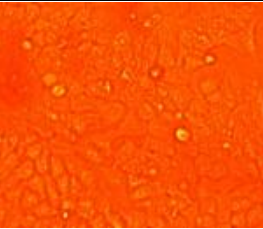
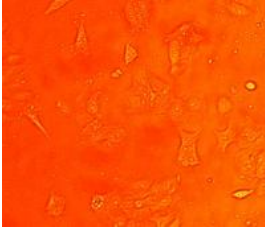
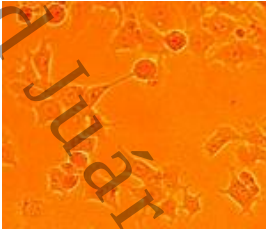
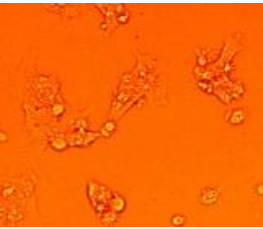
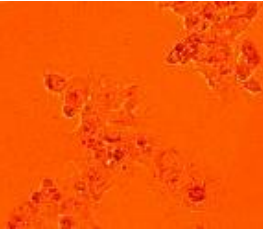
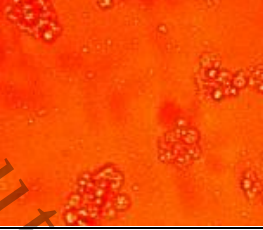
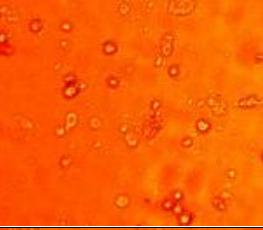
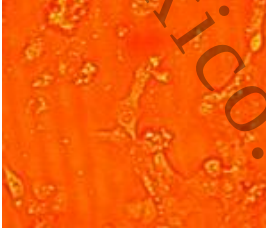
SIHA				
Con c	CHALCONA 2	CHALCONA 4	Con c	CHALCONA 3

Control		Control		
20			5	
40			10	
60			15	
80			20	



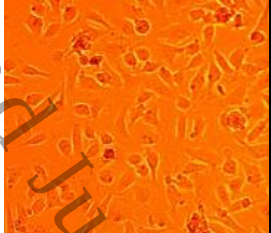
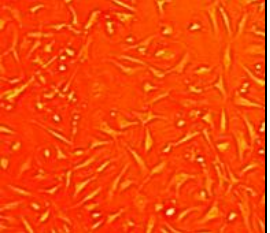
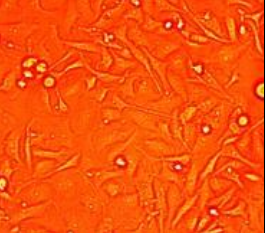
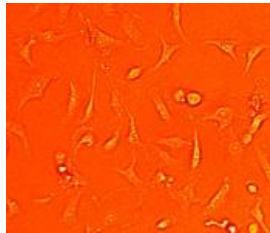
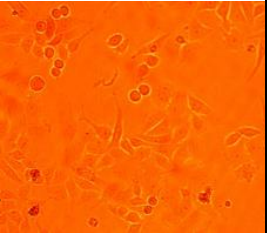
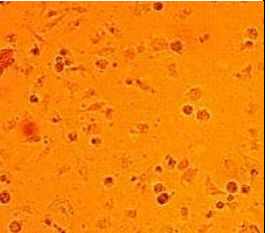
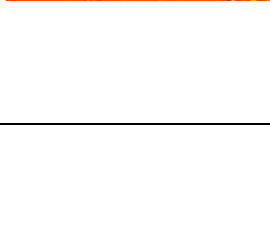
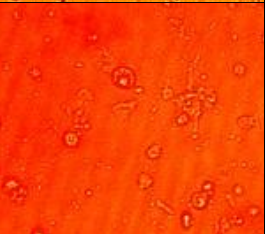
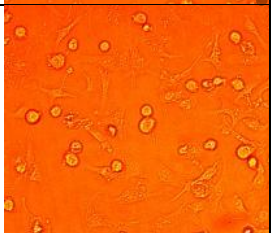
Fotografías de la actividad antiproliferativa de las chalconas 1, 2 y 3 en la línea celular SiHa proveniente de cáncer de cérvix después de 72 horas de tratamiento. Concentraciones de la chalcona 1 y 3 (0, 20, 40, 60, 80, 100 y 120 μM). Concentraciones de la chalcona 2 (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 μM).

ANEXO 6

Cinética temporal de la línea celular MCF-7 tratadas con las Chalcona 1, 2 y 3 con respecto a su CI_{50} durante 24, 48 y 72 horas				
	0	24	48	72
Control				
Chalcona 1				
Chalcona 2				
Chalcona 3				

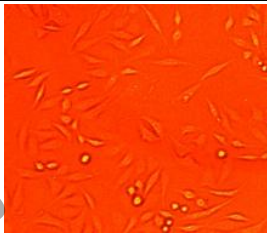
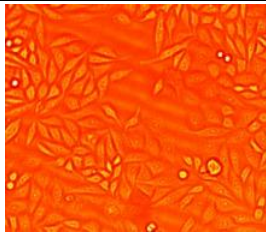
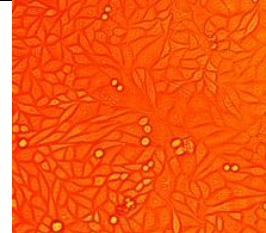
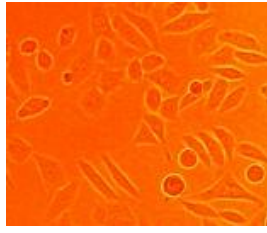
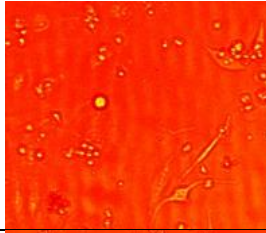
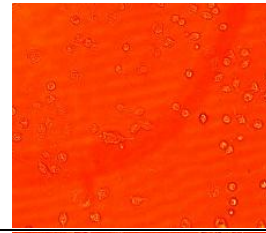
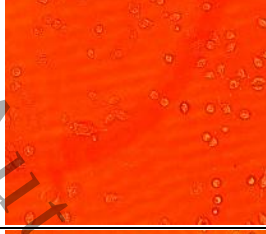
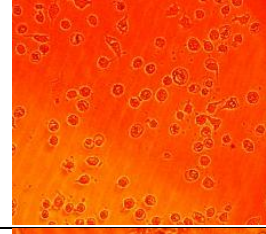
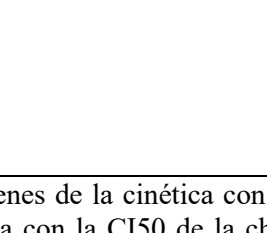
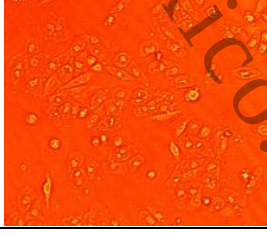
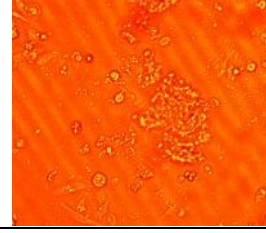
Imágenes de la cinética con respecto al tiempo (0, 24, 48 y 72 horas) de la línea celular MCF-7 tratada con la CI_{50} de la chalcona 1, 2 y 3. Las imágenes fueron obtenidas con microscopio invertido 10 X. Como control se utilizó DMSO para cada tiempo.

ANEXO 7

Cinética temporal de la línea celular MDA-MB-231. Tratamiento con Chalcona 1, 2 y 3 con respecto a su CI_{50} durante 24, 48 y 72 horas				
	0	24	48	72
Control				
Chalcona 1				
Chalcona 2				
Chalcona 3				

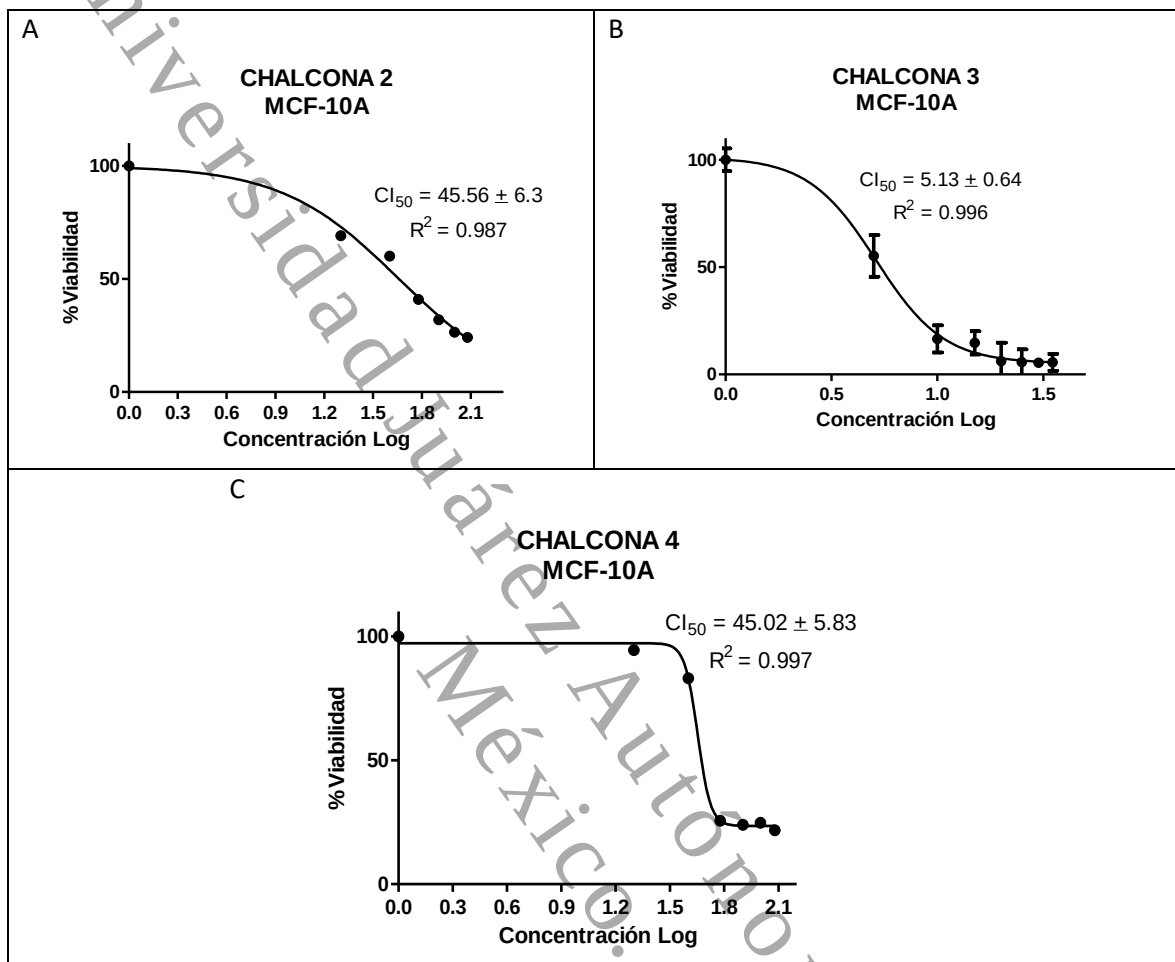
Imágenes de la cinética con respecto al tiempo (0, 24, 48 y 72 horas) de la línea celular MDA-MB-231 tratada con la CI_{50} de la chalcona 1, 2 y 3. Las imágenes fueron obtenidas con un microscopio invertido 10 X. Como control se utilizó DMSO para cada tiempo.

ANEXO 8

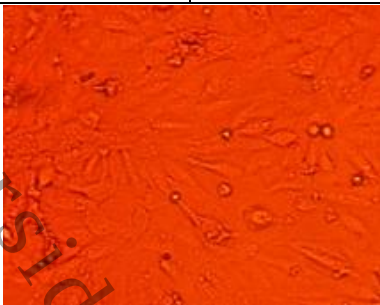
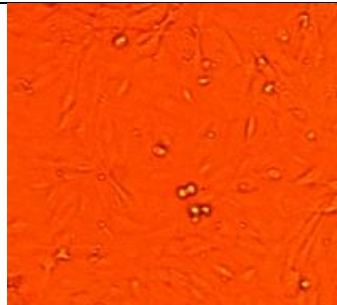
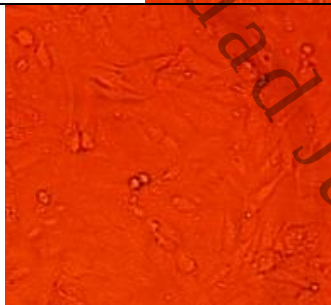
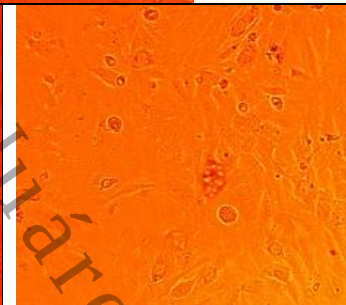
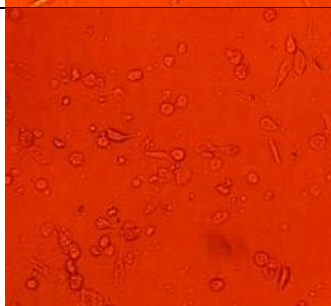
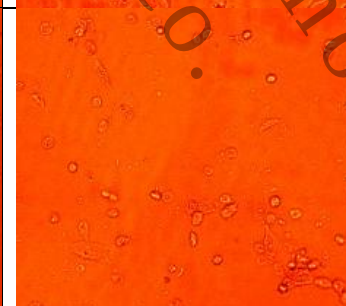
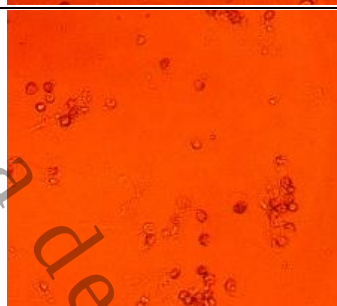
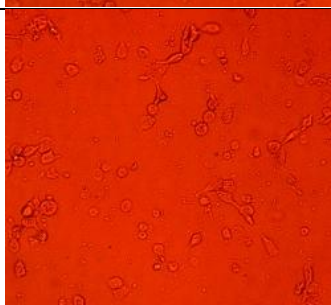
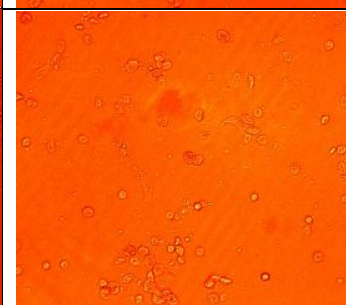
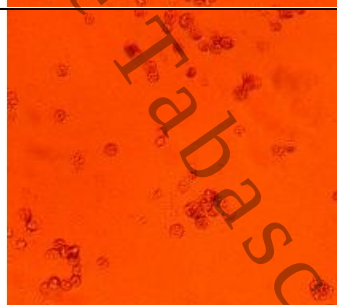
Cinética temporal de la línea celular MCF-7. Tratamiento con Chalcona 1, 2 y 3 con respecto a su CI_{50} durante 24, 48 y 72 horas				
	0	24	48	72
Control				
Chalcona 1				
Chalcona 2				
Chalcona 3				

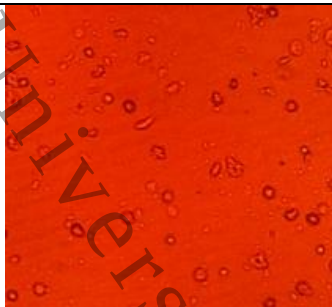
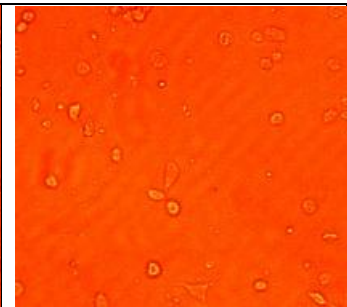
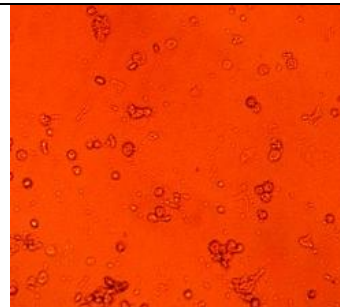
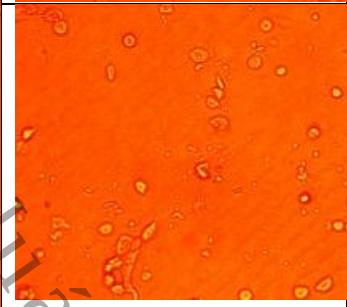
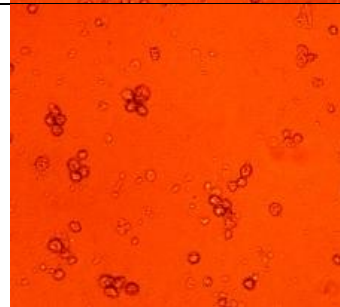
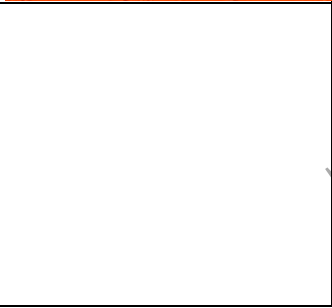
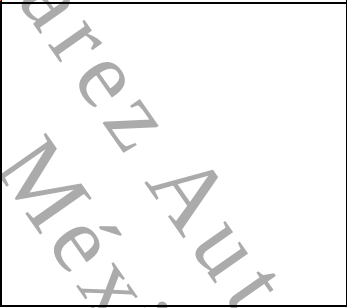
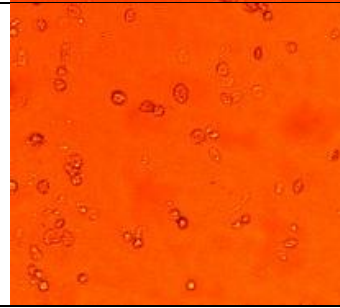
Imágenes de la cinética con respecto al tiempo (0, 24, 48 y 72 horas) de la línea celular MCF- 7 tratada con la CI_{50} de la chalcona 1, 2 y 3. Las imágenes fueron obtenidas con un microscopio invertido 10 X. Como control se utilizó al DMSO para cada tiempo.

ANEXO 9



Datos transformados a logaritmo para cálculo de la CI_{50} en la línea celular MCF-10A. Curvas logarítmicas de concentración con respecto al % de viabilidad celular A) chalcona 1. B) chalcona 2. C) chalcona 3.- Control: DMSO. Los datos graficados son expresados como el promedio + DE. Los ensayos se realizaron triplicado con seis repeticiones cada experimento.

MCF-10A							
Conc	CHALCONA 2		CHALCONA 4		Conc	CHALCONA 3	
Control					Control		
20					5		
40					10		
60					15		
80					20		

100			25	
120			30	
			35	

Fotografías de la actividad antiproliferativa de las chalconas 1, 2 y 3 en la línea celular MCF-10A proveniente de tejido mamario después de 72 horas de tratamiento. Concentraciones de la chalcona 1 y 3 (0, 20, 40, 60, 80, 100 y 120 μ M). Concentraciones de la chalcona 2 (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 μ M).

Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional	
Título de Tesis:	<i>Evaluación anticancerígena de los derivados de chalconas en líneas celulares de cáncer.</i>
Autor(a) o autores(ras) de la Tesis:	<i>Q.F.B. José Ángel González Díaz</i>
ORCID:	ORCID: 0009-0004-3360-5855
Resumen de la Tesis:	El cáncer es un proceso de crecimiento y diseminación incontrolada de células, originado por la transformación de células normales en tumorales. Es la segunda causa de muerte a nivel mundial. En las mujeres, los cánceres más comunes son el de mama (30.8%) seguido por el de cérvix (8.1%). Debido a las elevadas tasas incidencia y a la limitada efectividad de los tratamientos actuales, que presentan baja selectividad celular y efectos secundarios adversos, la búsqueda de nuevos tratamientos es una prioridad. Las moléculas tipo chalconas han demostrado actividades antiinflamatorias, antimicrobianas, antioxidantes y anticancerígenas. Las modificaciones en estas moléculas han mejorado su actividad biológica y selectividad en células cancerígenas. En este estudio, se sintetizaron tres derivados de chalconas mediante la condensación de Claisen-Schmidt y se evaluó su actividad anticancerígena en líneas celulares de cáncer

	de mama (MDA-MB-231 y MCF-7), cáncer de cérvix (SiHa) y una línea celular no cancerígena (MCF-10A). El derivado de chalcona con mejor actividad anticancerígena, a través de la inducción de apoptosis por la vía extrínseca, fue la chalcona sustituida con flúor sobre la línea celular MDA-MB-231.
Palabras claves de la Tesis:	<i>cáncer, chalconas, viabilidad celular, apoptosis.</i>
Referencias citadas:	Artykov, A. A., Yagolovich, A. V., Dolgikh, D. A., Kirpichnikov, M. P., Trushina, D. B., & Gasparian, M. E. (2021). Death Receptors DR4 and DR5 Undergo Spontaneous and Ligand-Mediated Endocytosis and Recycling Regardless of the Sensitivity of Cancer Cells to TRAIL. <i>Frontiers in Cell and Developmental Biology</i>, 9(September), 1–15. Bagul, C., Rao, G. K., Makani, V. K. K., Tamboli, J. R., Pal-Bhadra, M., & Kamal, A. (2017). Synthesis and biological evaluation of chalcone-linked pyrazolo[1,5-<i>A</i>] pyrimidines as potential anticancer agents. <i>MedChemComm</i>, 8(9), 1810–1816. Bazzaro, M., Anchoori, R. K., Mudiam, M. K. R., Issaenko, O., Kumar, S., Karanam, B., Lin, Z., Isaksson Vogel, R., Gavioli, R., Destro, F., Ferretti, V., Roden, R. B. S., & Khan, S. R. (2011). α,β unsaturated carbonyl system of chalcone-based derivatives is responsible for broad inhibition of proteasomal activity and preferential killing of human papilloma virus (HPV) positive cervical cancer cells. <i>Journal of Medicinal Chemistry</i>, 54(2), 449–456. Bender, T., & Martinou, J. C. (2013). Where killers meet-permeabilization of the outer mitochondrial membrane during apoptosis. <i>Cold Spring Harbor Perspectives in Biology</i>, 5(1), 1–13. L. F. B., Barbosa, F. R., Silva, G., Bitencourt, T. A., Beleboni, R. O., Baek, S. J., Marins, M., & Fachin, A. L. (2017). Cytotoxicity of trans-chalcone and licochalcone A against breast cancer cells is due to apoptosis induction and cell cycle arrest. <i>Biomedicine and Pharmacotherapy</i>, 85, 425–433. Boshra, A. N., Abdu-Allah, H. H. M., Mohammed, A. F., & Hayallah, A. M. (2020). Click chemistry synthesis, biological evaluation and docking study of some novel 2'-hydroxychalcone-triazole hybrids as potent anti-inflammatory agents. In <i>Bioorganic Chemistry</i> (Vol. 95). Elsevier Inc. Burmaoglu, S., Algul, O., Anil, D. A., Gobek, A., Duran, G. G., Ersan, R. H., & Duran, N. (2016). Synthesis and anti-proliferative activity of fluoro-substituted chalcones. <i>Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters</i>, 26(13), 3172–3176.

	Burmaoglu, S., Algul, O., Gobek, A., Aktas Anil, D., Ulger, M., Erturk, B. G., Kaplan, E., Dogen, A., & Aslan, G. (2017). Design of potent fluoro-substituted chalcones as antimicrobial agents. <i>Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry</i>, 32(1), 490–495. Burmaoglu, S., Ozcan, S., Balcioglu, S., Gencel, M., Noma, S. A. A., Essiz, S., Ates, B., & Algul, O. (2019). Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of bis-chalcone derivatives as xanthine oxidase inhibitors and anticancer agents. <i>Bioorganic Chemistry</i>, 91(July), 103149. Cancino, K., Castro, I., Yauri, C., Jullian, V., Arévalo, J., Sauvain, M., Adaui, V., & Castillo, D. (2021). Toxicity assessment of synthetic chalcones with antileishmanial potential in BALB/c mice. <i>Rev Peru Med Exp Salud Publica</i>, 38(3), 424–433. Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: características químicas y aplicaciones. <i>Cultivos Tropicales</i>, 22(2), 5–14. Chauhan, S. S., Singh, A. K., Meena, S., Lohani, M., Singh, A., Arya, R. K., Cheruvu, S. H., Sarkar, J., Gayen, J. R., Datta, D., & Chauhan, P. M. S. (2014). Synthesis of novel β-carboline based chalcones with high cytotoxic activity against breast cancer cells. <i>Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters</i>, 24(13), 2820–2824. Chlupacova, M. K., Kunes, J., Buchta, V., Vejsova, M., & Opletalova, V. (2015). Novel pyrazine analogs of chalcones: Synthesis and evaluation of their antifungal and antimycobacterial activity. <i>Molecules</i>, 20(1), 1104–1117. Christensen, L. P., Lam, J., & Thomasen, T. (1990). A chalcone and other constituents of <i>bidens tripartita</i>. <i>Phytochemistry</i>, 29(10), 3155–3156. Cole, A. L., Hossain, S., Cole, A. M., & Phanstiel, O. (2016). Synthesis and bioevaluation of substituted chalcones, coumaranones and other flavonoids as anti-HIV agents. <i>Bioorganic and Medicinal Chemistry</i>, 24(12), 2768–2776. Custodio, J. M. F., Faria, E. C. M., Sallum, L. O., Duarte, V. S., Vaz, W. F., De Aquino, G. L. B., Carvalho, P. S., & Napolitano, H. B. (2017). The influence of methoxy and ethoxy groups on supramolecular arrangement of two methoxy-chalcones. <i>Journal of the Brazilian Chemical Society</i>, 28(11), 2180–2191. de Mello, M. V. P., Abraham-Vieira, B. de A., Domingos, T. F. S., de Jesus, J. B., de Sousa, A. C. C., Rodrigues, C. R., & Souza, A. M. T. de. (2018). A comprehensive review of chalcone derivatives as antileishmanial agents. <i>European Journal of Medicinal Chemistry</i>, 150, 920–929. De Toro, G. (2006). Muerte celular programada. Revisión apoptosis y formas alternativas de muerte celular. VIII Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica, 3, 1–13. dos Santos, M. B., Bertholin Anselmo, D., de Oliveira, J. G., Jardim-Perassi, B. V., Alves Monteiro, D., Silva, G., Gomes, E., Lucia Fachin, A., Marins, M., de Campos Zuccari, D. A. P., & Octavio Regasini, L. (2019). Antiproliferative activity and p53 up regulation effects of chalcones on
--	---

	human breast cancer cells. <i>Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry</i>, 34(1), 1093–1099. Dubuisson, A., & Micheau, O. (2017). Antibodies and Derivatives Targeting DR4 and DR5 for Cancer Therapy. <i>Antibodies</i>, 6(4), 16. Ducki, S., Mackenzie, G., Greedy, B., Armitage, S., Chabert, J. F. D., Bennett, E., Nettles, J., Snyder, J. P., & Lawrence, N. J. (2009). Combretastatin-like chalcones as inhibitors of microtubule polymerisation. Part 2: Structure-based discovery of alpha-aryl chalcones. <i>Bioorganic and Medicinal Chemistry</i>, 17(22), 7711–7722. Eskander, R. N., Randall, L. M., Sakai, T., Guo, Y., Hoang, B., & Zi, X. (2012). Flavokawain B, a novel, naturally occurring chalcone, exhibits robust apoptotic effects and induces G2/M arrest of a uterine leiomyosarcoma cell line. <i>Journal of Obstetrics and Gynaecology Research</i>, 38(8), 1086–1094. European Collection of Authenticated Cell Cultures. (n.d.). Cell line profile - MCF-7. Retrieved January 26, 2021, from https://admin.phe-culturecollections.org.uk/media/130237/mcf7_cell-line-profile.pdf Feldbaek Nielsen, S., Boesen, T., Larsen, M., Schonning, K., & Kroman, H. (2004). Antibacterial chalcones—bioisosteric replacement of the 4'-hydroxy group. <i>Bioorganic & Medicinal Chemistry</i>, 12(11), 3047–3054. García, R., Franklin, R. A., & McCubrey, J. A. (2006). Cell death of MCF-7 human breast cancer cells induced by EGFR activation in the absence of other growth factors. <i>Cell Cycle</i>, 5(16), 1840–1846. Gilman, G. & (2018). Las bases farmacológicas de la terapéutica. In M. G. Hill (Ed.), <i>Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica</i> (13th ed.). Ginsburg, O., Bray, F., Coleman, M. P., Vanderpuye, V., Eniu, A., Kotha, R., Sarker, M., Huang, T. T., Allemani, C., Dvaladze, A., Gralow, J., Yeates, K., Taylor, C., Oomman, N., Krishnan, S., Sullivan, R., Kombe, D., Blas, M., Parham, G., ... Conteh, L. (2017). The global burden of women's cancers: an unmet grand challenge in global health Europe PMC Funders Group. <i>Lancet</i>, 389(10071), 847–860. Goldhirsch, A., Wood, W. C., Coates, A. S., Gelber, R. D., Thürlimann, B., & Senn, H. J. (2011). Strategies for subtypes—dealing with the diversity of breast cancer: Highlights of the St Gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2011. <i>Annals of Oncology</i>, 22(8), 1736–1747. Gomes, M. N., Muratov, E. N., Pereira, M., Peixoto, J. C., Rosseto, L. P., Cravo, P. V. L., Andrade, C. H., & Neves, B. J. (2017). Chalcone derivatives: Promising starting points for drug design. <i>Molecules</i>, 22(8). Guo, X. E., Ngo, B., Modrek, A. S., & Lee, W.-H. (2014). Targeting Tumor Suppressor Networks for Cancer Therapeutics. <i>Bone</i>, 15(1), 2–16. Hagmann, W. K. (2008). The many roles for fluorine in medicinal chemistry. <i>Journal of Medicinal Chemistry</i>, 51(15), 4359–4369. D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. <i>Cell</i>, 144(5), 646–674.
--	---

Universidade Federal do Rio de Janeiro	Herrera-Rodriguez, L., Khan, F., Robins, K., & Meyer, H. (2011). Perspectives on biotechnological halogenation. <i>Chimica Oggi / Chemistry Today</i>, 29, 31–33. Hou, Q., Lin, X., Lu, X., Bai, C., Wei, H., Luo, G., & Xiang, H. (2020). Discovery of novel steroidal chalcone hybrids with potent and selective activity against triple-negative breast cancer. <i>Bioorganic and Medicinal Chemistry</i>, 28(23), 115763. Hseu, Y.-C., Lin, R.-W., Shen, Y.-C., Lin, K.-Y., Liao, J.-W., Thiyagarajan, V., & Yang, H.-L. (2020). Flavokawain B and Doxorubicin Work Synergistically. <i>Cancers</i>, 12(09), 2475. Insuasty- Obando, B. (2016). Las chalconas y su uso como precursores en la síntesis de compuestos heterocíclicos nitrogenados. <i>Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales</i>, 40(155), 234. International Agency for Research on Cancer, (IARC). (2018). GLOBOCAN 2018: Latest global cancer data. <i>CA: A Cancer Journal for Clinicians</i>, September, 13–15. Janković, T., Turković, N., Kotur-Stevuljević, J., Vujić, Z., & Ivković, B. (2020). Differences in antioxidant potential of chalcones in human serum: In vitro study. <i>Chemico-Biological Interactions</i>, 324, 109084. Jiang, T. F., Lv, Z. H., & Wang, Y. H. (2005). Separation and determination of chalcones from <i>Carthamus tinctorius</i> L. and its medicinal preparation by capillary zone electrophoresis. <i>Journal of Separation Science</i>, 28(11), 1244–1247. Kabała-Dzik, A., Rzepecka-Stojko, A., Kubina, R., Iriti, M., Wojtyczka, R. D., Buszman, E., & Stojko, J. (2018). Flavonoids, bioactive components of propolis, exhibit cytotoxic activity and induce cell cycle arrest and apoptosis in human breast cancer cells MDA-MB-231 and MCF-7 – a comparative study. <i>CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY</i>. Karthikeyan, C., Narayana Moorthy, N. S. H., Ramasamy, S., Vanam, U., Manivannan, E., Karunakaran, D., & Trivedi, P. (2014). Advances in Chalcones with Anticancer Activities. <i>Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery</i>, 10(1), 97–115. Kučerová-Chlupáčová, M., Opletalová, V., Jampilek, J., Doležel, J., Dohnal, J., Pour, M., Kuneš, J., & Voříšek, V. (2008). New hydrophobicity constants of substituents in pyrazine rings derived from RP-HPLC study. <i>Collection of Czechoslovak Chemical Communications</i>, 73(1), 1–18. Kucerova-Chlupacova, M., Vyskovska-Tyllova, V., Richterova-Finkova, L., Kunes, J., Buchta, V., Vejsova, M., Paterova, P., Semelkova, L., Jandourek, O., & Opletalova, V. (2016). Novel halogenated pyrazine-based chalcones as potential antimicrobial drugs. <i>Molecules</i>, 21(11), 16. Kuo, Y. F., Su, Y. Z., Tseng, Y. H., Wang, S. Y., Wang, H. M., & Chueh, P. J. (2010). Flavokawain B, a novel chalcone from <i>Alpinia pricei</i> Hayata with potent apoptotic activity: Involvement of ROS and GADD153
---	--

	upstream of mitochondria-dependent apoptosis in HCT116 cells. <i>Free Radical Biology and Medicine</i>, 49(2), 214–226. Liao, N. C., Shih, Y. L., Chou, J. S., Chen, K. W., Chen, Y. L., Lee, M. H., Peng, S. F., Leu, S. J., & Chung, J. G. (2019). Cardamonin induces cell cycle arrest, apoptosis and alters apoptosis associated gene expression in WEHI-3 mouse leukemia cells. <i>American Journal of Chinese Medicine</i>, 47(3), 635–656. López, S. (2015). Grupo pentafluorosulfanilo (-SF5): ¿un nuevo bioisómero del grupo trifluorometilo (-CF3)? <i>Revista de La Facultad de Farmacia</i>, 77(1y2), 54–64. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. <i>J. Boil. Chem.</i>, 193, 265–275. M Dewick, P. (2002). Medicinal Natural Products. In <i>Pharmaceutical Sciences</i> (Vol. 0471496405). Mahapatra, D. K., Bharti, S. K., & Asati, V. (2015). Anti-cancer chalcones: Structural and molecular target perspectives. <i>European Journal of Medicinal Chemistry</i>, 98, 69–114. Mahapatra, D. K., Bharti, S. K., & Asati, V. (2017). Chalcone Derivatives: Anti-inflammatory Potential and Molecular Targets Perspectives. <i>Current Topics in Medicinal Chemistry</i>, 17(28). Mai, C. W., Yaeghoobi, M., Abd-Rahman, N., Kang, Y. B., & Pichika, M. R. (2014). Chalcones with electron-withdrawing and electron-donating substituents: Anticancer activity against TRAIL resistant cancer cells, structure-activity relationship analysis and regulation of apoptotic proteins. <i>European Journal of Medicinal Chemistry</i>, 77, 378–387. Manna, T., Pal, K., Jana, K., & Misra, A. K. (2019). Anti-cancer potential of novel glycosylated 1,4 substituted triazolylchalcone derivatives. <i>Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters</i>, 29(19), 126615. Matassov, D., Kagan, T., Leblanc, J., Sikorska, M., Zakeri, Z., Kumar, S., & Williams, O. (2004). Apoptosis Methods and Protocols. In <i>Methods in Molecular Biology</i> (Vol. 282). Meza-Junco, J., Montaña-Loza, A., & Aguayo-González, Á. (2006). Bases Moleculares Del Cancer. <i>Revista de Investigación Clínica</i>, 58(1), 56–70. Mohamed, M. F., Hassaneen, H. M., & Abdelhamid, I. A. (2018). Cytotoxicity, molecular modeling, cell cycle arrest, and apoptotic induction induced by novel tetrahydro-[1,2,4]triazolo[3,4-a]isoquinoline chalcones. <i>European Journal of Medicinal Chemistry</i>, 143, 532–541. Mullane, S. A., & Van Allen, E. M. (2016). Precision medicine for advanced prostate cancer. <i>Current Opinion in Urology</i>, 26(3), 231–239. Nurgali, K., Jagoe, R. T., & Abalo, R. (2018). Editorial: Adverse effects of cancer chemotherapy: Anything new to improve tolerance and reduce sequelae? <i>Frontiers in Pharmacology</i>, 9(MAR), 1–3.
--	---

	Omar, A. M., Alswah, M., Ahmed, H. E. A., Bayoumi, A. H., El-Gamal, K. M., El-Morsy, A., Ghiaty, A., Afifi, T. H., Sherbiny, F. F., Mohammed, A. S., & Mansour, B. A. (2020). Antimicrobial screening and pharmacokinetic profiling of novel phenyl-[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinoxaline analogues targeting DHFR and E. coli DNA gyrase B. <i>Bioorganic Chemistry</i>, 96, 103656. OMS. (2007). Control del cáncer: aplicación de los conocimientos; guía de la OMS para desarrollar programas eficaces; módulo 2. 57. OMS. (2017). Cáncer. WHO; World Health Organization. https://www.who.int/topics/cancer/es/ Orlikova, B., Tasdemir, D., Golais, F., Dicato, M., & Diederich, M. (2011). Dietary chalcones with chemopreventive and chemotherapeutic potential. <i>Genes and Nutrition</i>, 6(2), 125–147. Peerzada, M. N., Khan, P., Ahmad, K., Hassan, M. I., & Azam, A. (2018). Synthesis, characterization and biological evaluation of tertiary sulfonamide derivatives of pyridyl-indole based heteroaryl chalcone as potential carbonic anhydrase IX inhibitors and anticancer agents. <i>European Journal of Medicinal Chemistry</i>, 155, 13–23. Pereyra-Vergara, F., Olivares-Corichi, I. M., Perez-Ruiz, A. G., Luna-Arias, J. P., & García-Sánchez, J. R. (2020). Apoptosis induced by (–)-epicatechin in human breast cancer cells is mediated by reactive oxygen species. <i>Molecules</i>, 25(5), 1–13. Ponce, M. B., Gandarilla, A. D., Rodríguez, E. T., & Peña, D. (2016). Actividad antibacteriana in vitro de nuevas chalconas halogenadas. <i>Química Viva</i>, 15(2), 17–28. Racca, F., Morales-barrera, R., Suárez, C., Serrano, C., Valverde, C., & Carles, J. (2018). Vías de señalización del cáncer: oncogenes. <i>Revista Nefrología</i>, 9(1), 2–5. Reynoso-Noverón, N., Torres-Domínguez, J. A., Morales-Juárez, L., & Mohar-Betancourt, A. (2023). Análisis de la mortalidad por cáncer en México utilizando los resultados del Global Burden of Disease 2021. <i>Gaceta Medica de Mexico</i>, 159(6), 574–581. Rodríguez Fragosó, L., Hernández Baltasar, E., & Reyes Esparza, J. A. (2004). El ciclo celular: Características, regulación e importancia en el cáncer. <i>Biotecnología Aplicada</i>, 21(2), 60–69. Saavedra, E., Del Rosario, H., Brouard, I., Hernández-Garcés, J., García, C., Quintana, J., & Estévez, F. (2020). The synthetic flavanone 6-methoxy-2-(naphthalen-1-yl)chroman-4-one induces apoptosis and activation of the MAPK pathway in human U-937 leukaemia cells. <i>Bioorganic Chemistry</i>, 94(June), 103450. Sanz-Barbero, B., Prieto-Flores, M. E., Otero-García, L., Abt-Sacks, A., Bernal, M., & Cambas, N. (2014). Percepción de los factores de riesgo de cáncer por la población española. <i>Gaceta Sanitaria</i>, 28(2), 137–145. H Sathiyamoorthi, K., Mala, V., Sakthinathan, S. P., Kamalakkannan, D., Suresh, R., Vanangamudi, G., & Thirunarayanan, G. (2013). Solvent-free synthesis, spectral correlations and antimicrobial activities of some aryl e
--	--

	2-propen-1-ones. <i>Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy</i>, 112, 245–256. Schlitt, A., Jordan, K., Vordermark, D., Schwamborn, J., Langer, T., & Thomssen, C. (2014). Cardiotoxicity and Oncological Treatments. <i>Deutsches Arzteblatt International</i>, 111(10), 161–168. Semina, S. E., Scherbakov, A. M., Kovalev, S. V., & Shevchenko, M. V. E. A. (2017). Cancer Investigation Horizontal Transfer of Tamoxifen Resistance in MCF-7 Cell Derivates: Proteome Study Horizontal Transfer of Tamoxifen Resistance in MCF-Cell Derivates: Proteome Study. <i>CANCER INVESTIGATION</i>, 35(8), 506–518. Shukla, S., Sood, A. K., Goyal, K., Singh, A., Sharma, V., Guliya, N., Gulati, S., & Kumar, S. (2020). Chalcone Scaffolds as Anticancer Drugs: A Review on Molecular Insight in Action of Mechanisms and Anticancer Properties. <i>Anticancer Agents Med Chem</i>, 21(13). Srinivasan, B., Johnson, T. E., Lad, R., & Xing, C. (2009). Structure - Activity relationship studies of chalcone leading to 3-hydroxy-4,3',4',5'-tetramethoxychalcone and its analogues as potent nuclear factor κB inhibitors and their anticancer activities. <i>Journal of Medicinal Chemistry</i>, 52(22), 7228–7235. Stepanić, V., Matijašić, M., Horvat, T., Verbanac, D., Chlupáčová, M. K., Saso, L., & Žarković, N. (2019). Antioxidant activities of alkyl substituted pyrazine derivatives of chalcones—In vitro and in silico study. <i>Antioxidants</i>, 8(4). Swallow, S. (2015). Fluorine in medicinal chemistry. In <i>Progress in Medicinal Chemistry</i> (1st ed., Vol. 54). Elsevier B.V. Szliszka, E., Jaworska, D., Klósek, M., Czuba, Z. P., & Król, W. (2012). Targeting death receptor TRAIL R2 by chalcones for TRAIL-induced apoptosis in cancer cells. <i>International Journal of Molecular Sciences</i>, 13(11), 15343–15359. Torres-Sauret, Q., Sánchez, A., Fuente, R. De, Montero, P., Dorante, F., Teresa, M., Carmen, J., Reyes, V., & Ángel, M. (2017). Síntesis de (E)-1,3-difenil-prop-2-en-1-ona y su evaluación sobre el crecimiento de una cepa de <i>S. aureus</i> fármacorresistente. <i>Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas</i>, 48(3), 67–74. Tsai, J. P., Lee, C. H., Ying, T. H., Lin, C. L., Lin, C. L., Hsueh, J. T., & Hsieh, Y. H. (2015). Licochalcone A induces autophagy through PI3K/Akt/mTOR inactivation and autophagy suppression enhances Licochalcone A-induced apoptosis of human cervical cancer cells. <i>Oncotarget</i>, 6(30), 28851–28866. Vázquez-Ortíz, G., Piña-Sanchez, P., Hidalgo, A., Lazos, M., Moreno, J., Alvarado, I., Cruz, F., Hernández, D. M., Pérez-Plascencia, C., & Salcedo, M. (2005). Análisis de expresión global del cáncer cérvico uterino: rutas metabólicas y genes alterados. <i>Revista de Investigación Clínica</i>, 57(3), 434–441. Véras, J. H., do Vale, C. R., da Silva Lima, D. C., dos Anjos, M. M., Bernardes, A., de Moraes Filho, A. V., e Silva, C. R., de Oliveira, G. R., Pérez, C. N., & Chen-Chen, L. (2020). Modulating effect of a
--	--

	hydroxychalcone and a novel coumarin–chalcone hybrid against mitomycin-induced genotoxicity in somatic cells of <i>Drosophila melanogaster</i>. <i>Drug and Chemical Toxicology</i>, 0(0), 1–10. Wan, M., Xu, L., Hua, L., Li, A., Li, S., Lu, W., Pang, Y., Cao, C., Liu, X., & Jiao, P. (2014). Synthesis and evaluation of novel isoxazolyl chalcones as potential anticancer agents. <i>Bioorganic Chemistry</i>, 54, 38–43. Wang, Y., Hedblom, A., Koerner, S. K., Li, M., Jernigan, F. E., Wegiel, B., & Sun, L. (2016). Novel synthetic chalcones induce apoptosis in the A549 non-small cell lung cancer cells harboring a KRAS mutation. <i>Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters</i>, 26(23), 5703–5706 Welsh, J. E. (2013). Animal Models for Studying Prevention and Treatment of Breast Cancer. In <i>Animal Models for the Study of Human Disease</i>. Elsevier. Wong, R. S. Y. (2011). Apoptosis in cancer: From pathogenesis to treatment. <i>Journal of Experimental and Clinical Cancer Research</i>, 30(1), 87. Xu, M., Wu, P., Shen, F., Ji, J., & Rakesh, K. P. (2019). Chalcone derivatives and their antibacterial activities: Current development. <i>Bioorganic Chemistry</i>, 91(June), 103133. Yao, H., He, G., Yan, S., Chen, C., Song, L., Rosol, T. J., & Deng, X. (2017). Triple-negative breast cancer: Is there a treatment on the horizon? <i>Oncotarget</i>, 8(1), 1913–1924. You, Y., Bi, F. F., Jiang, Y., Xu, Y. T., An, Y. Y., Li, D., & Yang, Q. (2019). BRCA1 affects the resistance and stemness of SKOV3-derived ovarian cancer stem cells by regulating autophagy. <i>Cancer Medicine</i>, 8(2), 656–668. Yuan, P., Xu, B., Wang, C., Zhang, C., Sun, M., & Yuan, L. (2016). Ki-67 expression in luminal type breast cancer and its association with the clinicopathology of the cancer. <i>Oncology Letters</i>, 11(3), 2101–2105. Zhang, J., Fu, X. L., Yang, N., & Wang, Q. A. (2013). Synthesis and cytotoxicity of chalcones and 5 deoxyflavonoids. <i>The Scientific World Journal</i>, 2013. Zhang, J. H., & Xu, M. (2000). DNA fragmentation in apoptosis. <i>Cell Research</i>, 10(3), 205–211. Zhao, Z. X., Jin, J., Lin, C. Z., Zhu, C. C., Liu, Y. M., Lin, A. H., Liu, Y. X., Zhang, L., & Luo, H. F. (2011). Two new chalcone glycosides from the stems of <i>Entada phaseoloides</i>. <i>Fitoterapia</i>, 82(7), 1102–1105. Zhuang, C., Zhang, W., Sheng, C., Zhang, W., Xing, C., & Miao, Z. (2017). Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. <i>Chem Rev</i>, 117(12), 7762–7810.