



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS**

---

---

**FACULTAD DE FARMACIA**

**EFEECTO CITOTÓXICO DE ÁCIDO GÁLICO, ÁCIDO TÁNICO, Y ÁCIDO  
ELÁGICO SOBRE LA LÍNEA CELULAR DE CARCINOMA DE PULMÓN  
HUMANO A549**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**  
**LICENCIADO EN FARMACIA**  
**PRESENTA:**  
**DEBORA GUADARRAMA GUADARRAMA.**

Director de tesis: Dra. Leticia González Maya.

Cuernavaca, Morelos 2020





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



Fecha: 20 de septiembre del 2021  
Asunto: Asignación Jurado Revisor Tesis  
Medio Notificación: Impresa  
Folio: FF/D/SAc/JLF/0120/2021

**C. Debora Guadarrama Guadarrama**  
Matrícula 20161005060

Me permito hacer de su conocimiento que, para la revisión del trabajo de tesis “EFECTO CITOTÓXICO DE ÁCIDO GÁLICO, ÁCIDO TÁNICO, Y ÁCIDO ELÁGICO SOBRE LA LÍNEA CELULAR DE CARCINOMA DE PULMÓN HUMANO A549.” se designó al siguiente Jurado Revisor de Tesis.

Jurado	Firma y fecha de recepción de tesis
Dr. Samuel Enoch Estrada Soto	_____
Dra. Laura Álvarez Berber	_____
Dra. Jessica Nayelli Sánchez Carranza	_____
Dr. Erick Ayala Calvillo	_____
Dr. Alfonso Leija Salas	_____

**ATENTAMENTE**  
“POR UNA HUMANIDAD CULTA”  
*Una Universidad de Excelencia*

\_\_\_\_\_  
**Dr. Efrén Hernández Baltazar**  
**DIRECTOR**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

EFREN HERNANDEZ BALTAZAR | Fecha:2021-09-20 17:46:42 | Firmante

mhKbOz/yUI2bDFMWd7VSi4zSxzJAI+XKH2YR98O7F91xelei6ge5KwmvwaS1SHa+f8lrewfX5aJ7+SloAY4gmVSz+LX07/jj/pfrfo/aRn95+IbFnG1yVC33I4110Fk51UWDk77QNF/3O8JvtxAmRIDMUzfsTv7vhxzZEHBAwVgPjZFL5MM1RZN2ERiDND043m12AWL7B4MbLay1eWWduVthOsPTTRTu4pfqBDEx5bDcAGoWmLnXMztu9ltoRjF8SXR043GxraSjhaqpUZn6ZFIN5MqIIPNsrpvhJa871TFPcnhmePwMH29IKNwcV8Dv83e+o81ft/jr9TG+8gUUw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



RS1XtC

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/Nu4xHPeSGLCuHU5I0V1CCfYVkiV1SYsd>



Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**ERICK AYALA CALVILLO** | Fecha:2021-10-21 16:02:57 | Firmante

h5DeUWsXXbSmx+nR80b6pdKO+bE9xbGVmxWINaXCTZqIP7prRq5mvQblfyg5EzUb879YAsZ+0NO+gkm4POCVaPWZYQBqpfHlhRjRub2/9r+RxZEUbK5gR4NNauhrBNTUhtZTkv4B+bFJfm5q+gxoNfRR+tPlz1zcR3GmqVx2RDFVwb3fym0PVIw1lBmP5BGPfMlMwEzktKqKBB3bUDDHuxdqDRWiO/qFhNmOstpytrvw6bqEX/vAZM0rAXz11UKRpkYwhLUqCjaDnioRhy4JoGWSAmAGU4pmGDlo+qcGnE/XdvpqTAlnqDCTZ8BRn2Srr6+BT9bNuSN6Hi4T8Piw==

**ALFONSO LEIJA SALAS** | Fecha:2021-10-21 16:04:45 | Firmante

Hod6v6MUOVbu+NN15CxPc9b65qhHY2ZggdPgh79RzeOjZZn/uu2j+08ELS6p5YXmdKFXh861zxGWuKw2aYgFBqn16xHuY5wyN30mMduuhf66/krnQo+h13w4vXqCB7NGzQN0+1ySs4sJw1DTJHXb8HpwV5j5G8v6P0Ny9Svez4Dxmqq+SjrS23TOG2Fy55krr83+9KiUs2FHx8o52kq9RCJP7eHr4m+Sb4lyRrSK0F8l9MSMxkjUdbd3Ym1jY718c+Ay4UGxYusFmqqT5A7r2+1d3aB0ZMA+pA98lDRInx16XVQCf850egZEfnF+iIKxaYgwL0pzKlh+QolbM/kyA==

**SAMUEL ENOCH ESTRADA SOTO** | Fecha:2021-10-21 17:05:18 | Firmante

iGnlG49g/L62GzF45u6ghNpJwzxEOBWTZAeuUAUE9TyHF2u2SfxQFxn4Kf71Za6+q/KJmdekNvyW6psMlgJ7Sm3pd9HlIvUsIntOWqSk4BQ2kz1iFSZ5BcuVHeapocNea3dZB61TEIDSxGXwvPJA+yZLRx/ECmt0wTA3UblBrECyR3+oY4OPOwCHQf+Bk4dXCLT6i/SubTQrHSm+mnn7uQPgTKRVQ8FdBWhlBeMb5Gg7CdOZQRDTTEQ0bifrcD642AC3W8m3pmuhHL0yxm+Q9KLzFO3+RK8E5EVPmH5N8tV7le91mt+par3300r1PtXS4Gly7sCb4o6SbKqC5dHw==

**LAURA PATRICIA ALVAREZ BERBER** | Fecha:2021-10-21 18:32:14 | Firmante

MKXh3Wp5tH9eyGkgjLJHzZWqjBOVZyAgYCu+aZ5Xthh8URjxaf5O/XSdeONtJsxGxis69jppDRaNaqAel+8qCeoolp2KALOEf39SvCGcNZaumDJl8FP3kyyFqnhLxZBYCyoQr3cRlMI00gYBxwKIA5QilEg7LZFGYf4BQW6i/SmmaT0F1EYwi73W07dtGspXHKdQmibqc4RbzHO4ypeUtIIPuu+TwyXigPdUXi9BoSJMPrG9SAy3TODHsAGt4x0ulqE2rGSmDET8ii0I0YuHAQZtpwLMcn+eJ0qjH05PYvkQG29bD/SWJKQDgoSFu3gcWjH9y5wBNclQZ474wyaA==

**JESSICA NAYELLI SANCHEZ CARRANZA** | Fecha:2021-10-22 07:44:20 | Firmante

kH06Q/mNgOqCudF5Y8U6E2BLJ45Tzzi2nf/4KRovOZJlQ410kBWfF55wqwbQ22b5YVZUsbKSs9BobINmdtsESZAe6SPR1QloH1Ry6CgtLcK/6UeuZEBjWECeUVtTstDa2+WhB/0C/xMQbvZ6WfAtk0QICWWvs02qL/zAgCPyZ+gOQaKJ7WiwxsfbYJFDRWHzBtaOSVKOiXzRv2Ku/lyeIXwprZsGhKpUf8Gds3KKJgD6vj0z01u1hHCOmXpgEm8HTInRyxG102HBTD11NXVBjEi0Hzh1Ls4nxGmy4Z0tkKaBz3sl4v7j7kibLCcVodDL9tlOyMKcRtkVRjpFK8Q==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



zStx017gk

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/8eA60TNhKxmBOijrVra0YfH5ehOSyZa>

## Agradecimientos

A la Universidad Autónoma del Estado de Morelos por ser una excelente institución, especialmente a la Facultad de Farmacia por permitirme formarme como profesionalista

A la doctora Leticia González Maya por su apoyo, confianza, buena disposición y por ser una excelente guía en este proyecto.

A la doctora Jessy por sus consejos y apoyo incondicional.

A mis padres Raúl y Graciela porque más allá de darme la vida son mi ejemplo y mi motivación más grande para formarme como profesionalista.

A mis hermanos y sobrinos por estar ahí motivándome y acompañándome en este largo camino

A mi novio Rafa, por estar ahí siempre que lo necesite, brindándome su apoyo y amor incondicional.

A mi amiga Les por ser como una hermana en cada momento de mi estancia en la facultad.

A mis amigos Vivi, Telo, Manolo, Deni, y Jen por hacer mi vida un poco más agradable y brindarme su amistad en tiempos difíciles

A mi romie favorito San por brindarme un hogar, por alentarme en tiempos difíciles y darme apoyo emocional siempre que necesite un hombro donde llorar.

<b>CONTENIDO</b>	<b>PAG</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	8
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	9
<b>ÍNDICE DE GRAFICAS</b>	9
<b>ABREVIATURAS</b>	10
<b>GLOSARIO</b>	12
<b>RESUMEN</b>	14

<b>1. Introducción.</b>	<b>15</b>
<b>1.2 Cáncer</b>	<b>15</b>
<b>1.3 Cáncer de pulmón</b>	<b>15</b>
<b>2. Epidemiología de cáncer de pulmón a nivel mundial.</b>	<b>16</b>
<b>3. Tipos de cáncer de pulmón</b>	<b>18</b>
<b>3.1 Cáncer de pulmón de células pequeñas</b>	<b>18</b>
<b>3.2 Cáncer de pulmón de células no pequeñas</b>	<b>18</b>
<b>4. Diagnóstico cáncer de pulmón.</b>	<b>19</b>
<b>5. Antecedentes</b>	<b>19</b>
<b>6. Terapia utilizada para el tratamiento del cáncer.</b>	<b>19</b>
<b>6.1 Cirugía</b>	<b>20</b>
<b>6.2 Radioterapia.</b>	<b>21</b>
<b>6.3 Quimioterapia.</b>	<b>23</b>
<b>6.4 Agentes antineoplásicos derivados de fuentes naturales.</b>	<b>24</b>
<b>7. Ácidos fenólicos</b>	<b>24</b>
<b>7.1 Síntesis natural de compuestos fenólicos.</b>	<b>25</b>
<b>7.2 Lugar de la síntesis.</b>	<b>26</b>
<b>7.3 Ruta biosintética.</b>	<b>26</b>
<b>7.4 Ácido elágico</b>	<b>27</b>
<b>7.5 Síntesis de ácido elágico</b>	<b>29</b>
<b>7.6 Ácido tánico</b>	<b>30</b>
<b>7.7 Síntesis de ácido tánico.</b>	<b>31</b>
<b>7.8 Ácido gálico</b>	<b>31</b>
<b>7.9 Síntesis ácido gálico</b>	<b>32</b>
<b>8. Justificación.</b>	<b>32</b>
<b>9. Hipótesis.</b>	<b>33</b>
<b>10. Objetivos.</b>	<b>33</b>
<b>10.1 Objetivo general</b>	<b>33</b>
<b>10.2 Objetivos específicos.</b>	<b>33</b>
<b>11. Procedimiento experimental.</b>	<b>33</b>
<b>12. Origen y mantenimiento de la línea celular A549.</b>	<b>33</b>
<b>13. Evaluación del efecto citotóxico</b>	<b>34</b>
<b>14. Revelado por la técnica de tinción con rojo neutro.</b>	<b>35</b>
<b>15. Análisis de resultados</b>	<b>36</b>
<b>16. Resultados y Discusión.</b>	<b>36</b>
<b>16.1 Ácido Gálico</b>	<b>37</b>
<b>16.2 Ácido Tánico</b>	<b>38</b>
<b>16.3 Ácido elágico</b>	
<b>17. Conclusión.</b>	
<b>18. Perspectivas</b>	
<b>19. Bibliografía</b>	<b>41</b>
	<b>41</b>
	<b>42</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>PAG</b>
1. Figura 1. Principales vías de señalización afectadas por la hiperactivación del EGFR	16
2. Figura 2. Tipos de biopsias quirúrgicas	20
3. Figura 3. Estructura química del taxol	24
4. Figura 4. Estructura química del ácido hidroxicinámico	25
5. Figura 5. Estructura química de ácido hidroxibenzoico	25
6. Figura 6. Biosíntesis del ácido shikímico a partir de fosfo enol pirúvico y eritrosa 4 fosfato	27
7. Figura 7. Estructura química del Ácido Elágico	28
8. Figura 8. El mecanismo de acción del ácido elágico descrito por Salimi et al. en linfocitos B de CLL	29
9. Figura 9. Estructura química del ácido tánico	30
10. Figura 10. Estructura química del ácido gálico	32
11. Figura 11. Diseño general de los ensayos de citotoxicidad de los diferentes ácidos. Se muestra la región reservada para el control negativo y positivo y los diferentes pozos destinados para los ácidos fenólicos	35

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

	<b>PAG</b>
1. Gráfica 1. Muertes por diferentes tipos de cáncer en hombres y mujeres, de todas las edades, a nivel mundial en el 2008	18
2. Gráfica 2. Porcentaje de inhibición celular contra logaritmo de concentración de ácido gálico a las 48 horas	37
3. Figura 3. Inhibición de la proliferación celular de A549 dependiente de la concentración de ácido tánico	38
4. Gráfica 4. Porcentaje de inhibición contra logaritmo de concentración de ácido elágico en células A 549	39

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>PAG</b>
Tabla 1. Manifestaciones comunes del cáncer de pulmón	19
Tabla 2. Tabla de efectos agudos, durante la radioterapia e inmediatamente después	21
Tabla 3. Tabla de efectos tardíos, durante la radioterapia e inmediatamente después	22
tabla 4. Se muestran las curvas concentración-respuesta, del ácido gálico, ácido tánico, y ácido elágico, así como su concentración inhibitoria 50, a las 48 horas	40

## **Abreviaturas**

**A549** Línea celular epitelial basal alveolar humana adenocarcinómica

**ADN** Ácido desoxirribonucleico

**AE** Ácido elágico

**AG** Ácido gálico

**AT** Ácido tánico

**ATP** Adenosín trifosfato

**BHK-21** línea celular de fibroblastos renales

**°C** Unidad de temperatura grado Celsius

**CasKi** línea celular derivada de virus del papiloma humano tipo 16 (virus del papiloma humano-1)

**CO<sub>2</sub>** Dióxido de carbono

**CP** Cáncer de pulmón

**CPCP** Cáncer pulmonar de células pequeñas

**CPCNP** Cáncer pulmonar de células no pequeñas

**DAHP** Enzima 3-desoxi-D-arabinoheptulosa 7-fosfato sintasa

**DMEM/F12** Medio basal para células de mamífero

**EBC-1** Línea de carcinoma de células escamosas de pulmón humano.

**EGPR** Gen que da origen a una proteína que participa en la multiplicación y supervivencia celular

**FTIR** Infrarrojos por transformada de Fourier y es el método preferido para la espectroscopía de infrarrojos

**G2/M** punto control del ciclo celular

**HeLA** línea de cultivo celular de cáncer cérvico-uterino

**HEP3B** línea celular de carcinoma hepatocelular

**HHDP** Ácido hexahidroxidifénico

**IC50** Concentración inhibitoria media

**IHH** Línea celular de hepatocito humano inmortalizado

**K-RAS** Gen que da origen a una proteína que participa en las vías de señalización celular

**LNCaP** células de adenocarcinoma de próstata humana sensibles a los andrógenos derivadas de la metástasis del ganglio linfático supraclavicular izquierdo

**mL** mililitro

**NAHP** Nicotiamina-adenina dinucleótido fosfato

**nM** nanomolar

**NMR** Resonancia magnética nuclear

**PAL** Fenilalanina amoniacalliasa

**PC3** línea celular de cáncer de próstata humana

**ROS** Especies reactivas de oxígeno

**SFB** Suero fetal bovino

**μL** Microlitro

**VPH** Virus del papiloma humano

## Glosario

**Actividad biológica:** Capacidad de una sustancia, ya sea fármaco o toxina, de producir un efecto benéfico o adverso sobre un organismo. Esta capacidad depende de la concentración de la sustancia y de su naturaleza física y química.

**Antimutagénico:** Sustancia química capaz de producir un efecto inhibitorio o que contrarresta a un mutágeno. Esta capacidad depende de la concentración de la sustancia y de su naturaleza física y química.

**Antineoplásicos:** Fármacos que se emplean como tratamiento de los procesos tumorales impidiendo el desarrollo, crecimiento o proliferación de células tumorales.

**Antioxidante:** Molécula que por sus características químicas es capaz de prevenir o retardar la oxidación de otras moléculas.

**Apoptosis:** Es el proceso ordenado por el que la célula muere ante estímulos extra- o intramoleculares.

**Cáncer:** es una enfermedad crónico-degenerativa que se caracteriza por una proliferación celular descontrolada, asociada a la exposición prolongada de agentes químicos, físicos o ambientales, y a factores genéticos

**Células A549:** Línea celular epitelial basal alveolar humana adenocarcinoma

**Citotóxico:** Sustancia química capaz de producir un efecto tóxico sobre células. Esta capacidad depende de la concentración de la sustancia y de su naturaleza física y química.

**Concentración inhibitoria media:** Concentración de un inhibidor donde la respuesta se reduce a la mitad.

**Crónico- degenerativo:** Una condición crónica- degenerativa es una enfermedad que tiene procesos evolutivos largos y que generalmente empeoran con el paso del tiempo

**Especies reactivas de oxígeno:** Todas aquellas especies reactivas que, siendo o no radicales libres, deben su reactividad a un átomo de oxígeno

**Estrés oxidativo:** Es una afección causada por un desequilibrio entre la producción de radicales libres (principalmente) ROS y la capacidad de síntesis de antioxidantes de un sistema biológico.

**In vitro:** Técnica empleada para realizar un experimento biológico en un ambiente controlado fuera del organismo vivo.

**Polifenóles:** Macromoléculas formadas por unidades fenólicas. Generalmente son subdivididos en taninos hidrolizables formados por ésteres de ácido gálico y glucosa y fenilpropanoides, como los lignanos y los taninos condensados.

**Quimioterapia:** Es el uso de una terapia farmacológica utilizada para destruir las células cancerosas.

**Radicales libres:** Cualquier especie (átomo, molécula o ion) que contenga al menos un electrón desapareado en su último orbital y que sea capaz de subsistir de forma independiente y que son altamente reactivos.

**Toxicidad:** Grado de efectividad que poseen las sustancias que, por su composición química, se consideran toxinas y son capaces de producir efectos perjudiciales sobre el ser vivo.

## Resumen.

**Introducción:** El término cáncer es genérico, y designa un amplio grupo de enfermedades que pueden llegar a afectar cualquier parte del cuerpo, a nivel mundial el cáncer de pulmón es considerado como la primera causa de muerte por cáncer.<sup>2</sup> Por lo cual, es de suma importancia, la búsqueda de moléculas con actividad citotóxica que puedan ser candidatos para el desarrollo de nuevos fármacos antineoplásicos. En este proyecto analizo la actividad citotóxica de tres diferentes ácidos fenólicos de origen natural, ácido gálico, ácido tánico, y ácido elágico, en un modelo celular *in vitro*, de células de cáncer de pulmón A 549, con la finalidad de proporcionar conocimientos clave sobre el efecto citotóxico de estos compuestos, en la búsqueda de compuestos con potencial actividad antineoplásica.

**Resultados:** El ácido gálico presentó una  $CI_{50}$  de  $97\mu\text{g/mL}$  ( $570\mu\text{M}$ ) el ácido tánico  $CI_{50}$   $97\mu\text{g/mL}$  ( $57.02\mu\text{M}$ ) lo que demuestra que las células no fueron sensibles a estos dos compuestos. Sin embargo, el ácido elágico presentó una  $CI_{50}$   $9.42\mu\text{g/mL}$  ( $31.17\mu\text{M}$ ) a las 48 horas mostrando un efecto citotóxico mayor al presentado por los otros compuestos.

Este efecto diferencial puede deberse a características químicas o físicas de los diferentes fenoles del ácido elágico, así como al background genético/epigenético de las células evaluadas en este estudio, que respondió de manera más sensible.

**Conclusión:** El compuesto con mayor actividad fue ácido elágico mostrando una  $CI_{50}$  de  $9.42\mu\text{g/mL}$  ( $31.17\mu\text{M}$ )

## **1. Introducción.**

### **1.1 Cáncer**

El término “cáncer” es genérico, no es una enfermedad única, designa un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del cuerpo y se clasifican en función del tejido y de la célula de origen.<sup>1</sup> El cáncer, es un crecimiento tisular provocado por un grupo de células que se multiplican sin control y de manera autónoma, con capacidad de invasión y destrucción de otros tejidos.<sup>1,2</sup>

El origen del cáncer es multifactorial, donde alteraciones genéticas y epigenéticas dirigen al desarrollo y proliferación de células transformadas.

Estas alteraciones genéticas y epigenéticas permiten a las células sobrevivir, replicarse y evadir mecanismos reguladores de apoptosis del ciclo celular, los mecanismos responsables de reparar y mantener el ADN pueden verse afectados por mutaciones, estas mutaciones pueden ser hereditarias o esporádicas, y pueden presentarse en todas las células o solo en células tumorales.<sup>20</sup>

### **1.2 Cáncer de pulmón**

El cáncer del pulmón se origina en estructuras del árbol respiratorio como por ejemplo la tráquea, los bronquios, los bronquiolos o los alvéolos<sup>13</sup>

El proceso del cáncer de pulmón es similar al de otros tipos de cáncer. La célula normal que se transforma en la célula tumoral se encuentra en el epitelio que reviste todo el árbol respiratorio desde la tráquea hasta el bronquiolo terminal más fino, y las células que se encuentran en los alveolos pulmonares.

En la actualidad se ha establecido que el cáncer de pulmón se desarrolla como consecuencia de la acumulación de diversas alteraciones moleculares que afectan secuencias génicas que codifican proteínas relacionadas con el control de la proliferación celular, la diferenciación y la apoptosis,<sup>21</sup> entre estas secuencias se incluyen fundamentalmente protooncogenes los cuales son reguladores positivos del crecimiento, y reguladores negativos de crecimiento como los genes supresores de tumores y por último los genes relacionados con el control de los mecanismos de muerte celular programada<sup>22</sup>

Una de las vías más relevantes en el cáncer de pulmón es la vía de señalización de EGFR (factor de crecimiento epidérmico) (Figura 1). El EGFR es un receptor transmembranario que se localiza en la superficie celular y tiene actividad tirosina cinasa. Lo codifica un gen con 28 exones, con lo que resulta fácil inactivarlo con una mutación al azar. Es importante destacar que las mutaciones presentes en el EGFR

son prevalentes en adenocarcinomas de no fumadores, mientras que en adenocarcinomas de fumadores lo son las mutaciones en K-ras.<sup>23</sup> El K-ras es un miembro de la superfamilia Ras que a menudo muta en el cáncer de pulmón

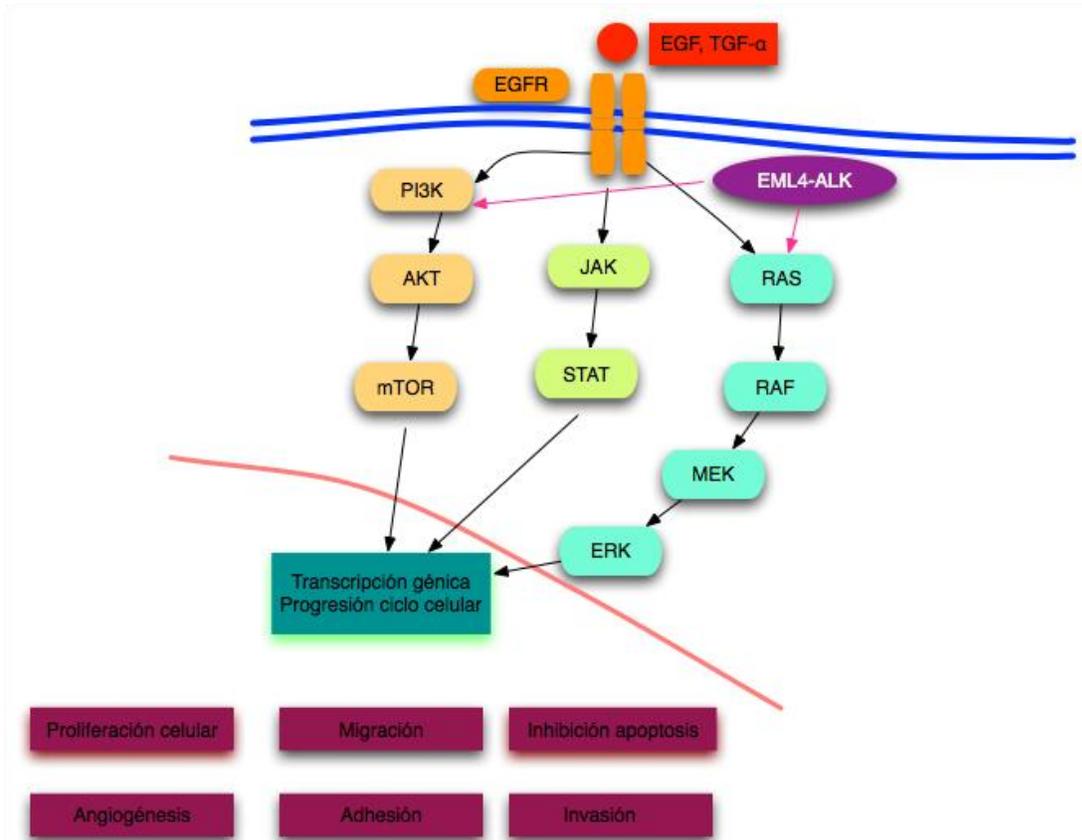


Figura 1. Principales vías de señalización afectadas por la hiperactivación del EGFR.<sup>23</sup>

## 2. Epidemiología de cáncer de pulmón a nivel mundial.

Dentro de todos los cánceres existentes en el mundo, el cáncer de pulmón es considerado como la primera causa de muerte por cáncer a nivel mundial, (gráfica 1.)<sup>6</sup> Su alta tasa de mortalidad está asociado a una detección tardía, solo el 15% de los casos se diagnostican en etapas iniciales y el 85% de los pacientes presentan síntomas cuando el estadio del cáncer es muy avanzado y con poca probabilidad de responder al tratamiento.<sup>8 9</sup>

De acuerdo con GLOBOLCAN 2018, el cáncer es la principal causa de muerte a nivel mundial. Cada año se presentan 1.8 millones de nuevos casos y cobra la vida de 9.6 millones de personas en el mundo, siendo el cáncer de pulmón el que presenta mayor índice de mortalidad en población general con 1.8 millones de decesos, seguido del colorrectal (881 mil), gástrico (783 mil), hepático (782 mil) y mama (627 mil).<sup>31</sup>

Si bien todas las enfermedades oncológicas son importantes, hoy la principal preocupación está en el cáncer de pulmón (CP) pues, a diferencia de otros tumores, es el más agresivo y mortal. En México, por ejemplo, este tipo de cáncer es la segunda causa de muerte en hombres y la cuarta en mujeres<sup>36</sup>; cada año cobra la vida de más de 8 mil personas (22 mexicanos al día)<sup>32</sup>

El tabaco aparece como el factor etiológico principal y la incidencia de la enfermedad en una población determinada refleja en gran medida la prevalencia del consumo del tabaco. Después del diagnóstico la tasa de supervivencia a 5 años es, globalmente, inferior al 10%. La incidencia y la mortalidad son más altas en los países desarrollados, especialmente en Estados Unidos y en Europa; sin embargo, la Organización Mundial de la Salud estima que en el año 2025 la mortalidad atribuida al cáncer pulmonar habrá aumentado 2 o más veces en todo el mundo, fundamentalmente a expensas de los países menos desarrollados y debido primordialmente a la globalización en el consumo de tabaco, entre otros factores ambientales<sup>37, 38</sup>.

A inicios de la epidemia del CP el 90% de los casos se atribuyeron al tabaquismo, sin embargo, en las últimas décadas esta proporción ha evidenciado un cambio que es importante mencionar debido a que, a nivel global, actualmente se estima que el 25% de los casos de CP ocurren en sujetos nunca fumadores, en quienes se considera una etiología multifactorial dentro de la cual se han investigado diversos carcinógenos ambientales, ocupacionales y factores genéticos.<sup>33</sup>

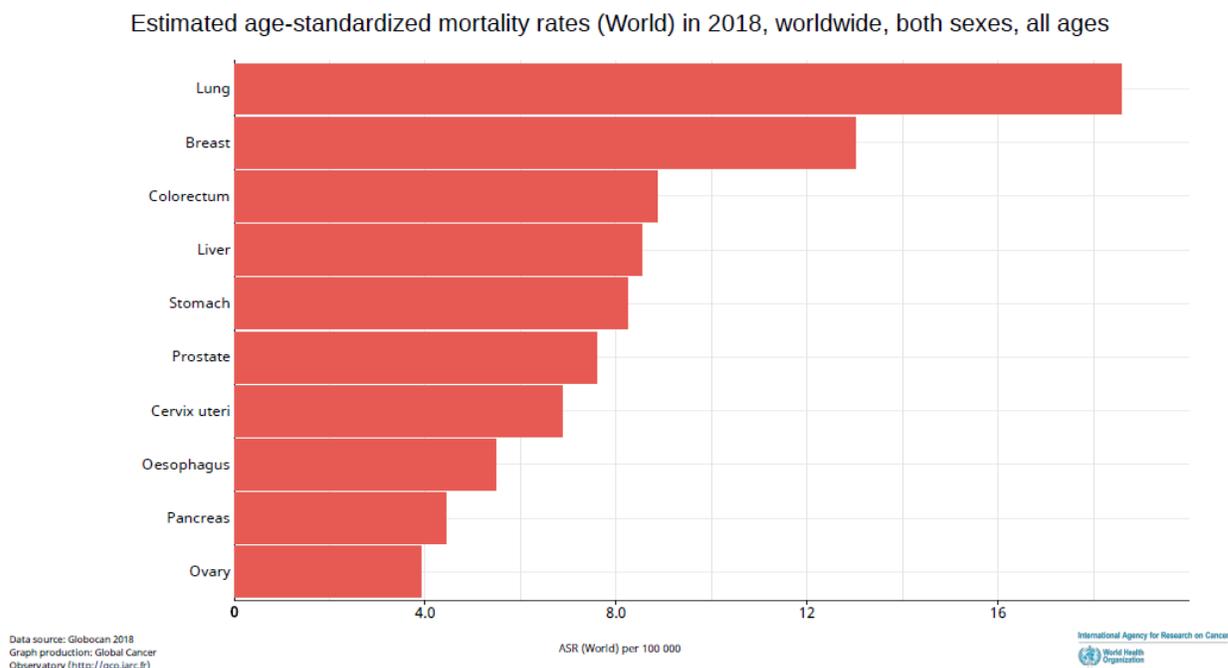
Existen dos tipos de cáncer de pulmón de acuerdo con su origen y las células que ataca<sup>34</sup>:

- Cáncer pulmonar de células pequeñas (CPCP) que representa el 20% de todos los casos de cáncer pulmonar. Esta forma de cáncer de pulmón crece más rápido, es muy agresiva y produce metástasis con relativa rapidez.
- Cáncer pulmonar de células no pequeñas (CPCNP) que representa el 80% de todos los casos de cáncer pulmonar.

En el país se estimaron para el año 2010 más de 10 mil muertes por esta causa, lo que significa un incremento del 50% en tan sólo una década. El cáncer de pulmón causa altos costos económicos, tanto para instituciones del sector salud como del sector productivo con un gasto anual promedio por paciente mayor a 100 mil pesos<sup>35</sup>.

El cáncer de pulmón es considerado el más frecuente, y esto en gran parte está dado por el desconocimiento y la desinformación que existe sobre sus signos y síntomas en la población esto provoca que 85% de los pacientes lleguen a los servicios de salud en

etapas tardías para las que no existen tratamientos curativos. Esto significa que solo un 15% de los casos se detectan en etapas iniciales<sup>35</sup>.



**Grafica 1. La siguiente grafica representa las muertes por diferentes tipos de cáncer en hombres y mujeres, de todas las edades, a nivel mundial en el 2008.<sup>6</sup>**

### 3. Tipos de cáncer de pulmón

El cáncer de pulmón principalmente se clasifica en dos tipos: cáncer de pulmón de células pequeñas y cáncer de pulmón de células no pequeñas esto va a depender de cómo se vean las células al microscopio, dependiendo del tipo de cáncer que se trate es como se va a diseminar o bien a tratar.

#### 3.3 Cáncer de pulmón de células pequeñas

Llamado también cáncer microcítico, cuyas células parecen granos de avena al verlas al microscopio; crece con rapidez y de igual forma se disemina a otros órganos<sup>13</sup>

#### 3.4 Cáncer de pulmón de células no pequeñas

Es el más frecuente, se subdivide a su vez, en tres tipos: carcinoma epidermoide, adenocarcinoma y carcinoma de células grandes<sup>13</sup>

#### 4. Diagnóstico cáncer de pulmón.

Aproximadamente el 10 % de los cánceres de pulmón en pacientes asintomáticos se diagnostican con radiografía de tórax. Los principales signos y síntomas que pueden llegar a presentar algunos pacientes son inespecíficos como fatiga, anorexia y pérdida de peso, algunos otros presentan síntomas directos ocasionados por la enfermedad como tumores primarios o diseminación intratorácica o extratorácica tabla 1.<sup>26</sup>

<b>Tumor primario</b>	<b>Diseminación intratorácica</b>	<b>Diseminación extratorácica</b>
Molestias en el pecho	invasión de la pared torácica	Pérdida de peso
Tos	Síntomas esofágicos	Convulsiones
Disnea	Síndrome de horner	Debilidad
Hemoptisis	Tumor de Pancoast	Náuseas vómitos
	Derrame pleural	Nivel elevado de fosfatasa alcalina
	Parálisis recurrente del nervio laríngeo	Confusión, cambio de personalidad
	Obstrucción de la vena cava superior	Dolor de huesos, fractura
	Parálisis del nervio frénico	Déficits neurológicos focales

Tabla 1. Manifestaciones comunes del cáncer de pulmón<sup>26</sup>

#### 5. Antecedentes

#### 6. Terapia utilizada para el tratamiento del cáncer.

Existen diferentes terapias utilizadas contra el cáncer dentro de estas podemos encontrar:

## 6.5 Cirugía

La cirugía es un procedimiento para extirpar o reparar alguna parte del cuerpo, la cirugía oncológica, trabaja extirpando el tumor y parte del tejido que lo rodea durante una operación elaborada por cirujano oncólogo, la cirugía sigue siendo una de las más utilizadas, efectivas, y más antiguas terapias utilizadas contra el cáncer, existen diferentes razones para hacer uso de una cirugía, ya sea para diagnóstico; un ejemplo de esto son las biopsias quirúrgicas donde se hace una incisión y se extirpa una parte de la superficie sospechosa para evaluarla, y la otra es la biopsia excisional donde se toma toda el área afectada figura 2.

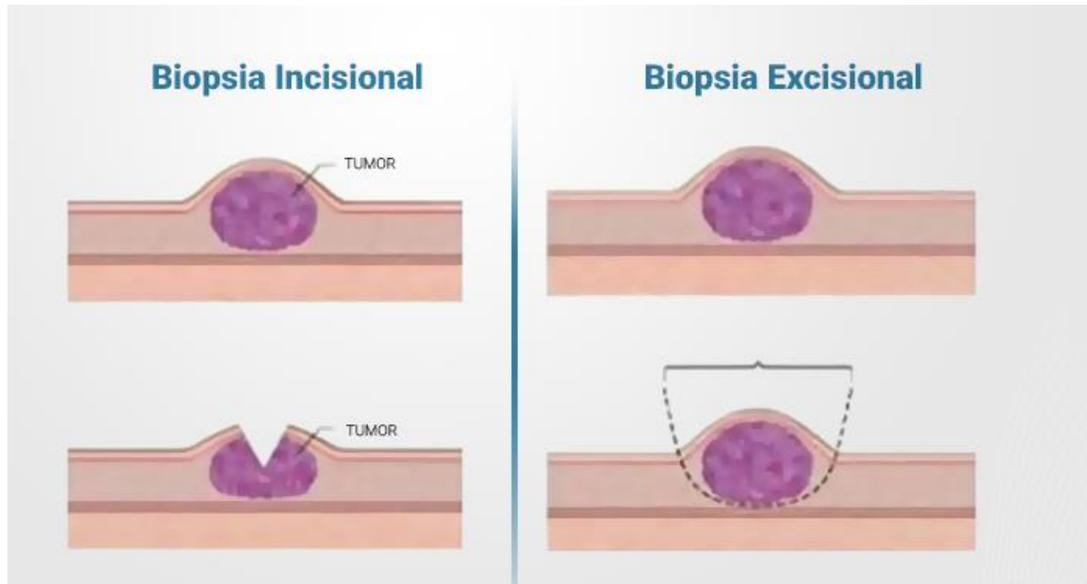


Figura 2. Tipos de biopsias quirúrgicas.<sup>61</sup>

Para el cáncer de pulmón existen diferentes tipos de cirugías estas van a depender del diagnóstico del paciente y el tipo de tejido donde se encuentre el cáncer dentro de las cirugías más utilizadas se encuentra:

**Biopsia por aspiración con aguja fina:** El médico utiliza una jeringa con una aguja hueca muy fina para extraer (aspirar) células y pequeños fragmentos de tejido. También se puede hacer una biopsia por aspiración con aguja fina para determinar la presencia de cáncer en los ganglios linfáticos localizados entre los pulmones.

La aspiración transtraqueal o transbronquial con aguja fina se realiza pasando la aguja a través de la pared de la tráquea o de los bronquios (las vías respiratorias grandes que conducen a los pulmones) durante una broncoscopia o ecografía endobronquial

**Biopsia transtorácica con aguja**

Si el tumor se encuentra en la parte exterior de los pulmones, la aguja para la biopsia se puede colocar en la pared torácica a través de la piel. El área donde se inserta la aguja se puede adormecer primero con anestesia local. Después el médico dirige la aguja hacia el área mientras observa los pulmones mediante fluoroscopia (que es como una radiografía) o una tomografía computarizada.

Una posible complicación de este procedimiento consiste en la posibilidad de que se escape aire del pulmón en el lugar de la biopsia y se acumule en el espacio entre el

pulmón y la pared torácica. A esto se le denomina neumotórax, y puede causar que parte del pulmón colapse y exista dificultad para respirar. Si la fuga de aire es pequeña, a menudo mejora sin ningún tratamiento. Las fugas de aire grandes se tratan colocando un tubo en el pecho (un pequeño tubo en el espacio del pecho) para succionar el aire durante uno o dos días, después de esto generalmente sanan por sí solas.<sup>61 62</sup>

### 6.6 Radioterapia.

La radioterapia es la aplicación de radiaciones ionizantes con el fin de eliminar un crecimiento celular anormal o desregulado. Su efecto se produce mediante la transferencia de energía en forma de ondas electromagnéticas o partículas, que producen un cambio químico, ionización, cuyo efecto principal es la ruptura del material genético de las células, ADN, conducente a detener la multiplicación celular y producir su muerte.<sup>24</sup>

La radioterapia consiste en emplear radiaciones ionizantes de alta energía capaces de eliminar las células cancerosas y detener su crecimiento y su división en la zona en la que es aplicada,<sup>14</sup> se utiliza como tratamiento curativo en tumores localizados loco-regionalmente, también como tratamiento adyuvante y neoadyuvante de la cirugía, radioterapia post y preoperatoria respectivamente y de igual forma con la quimioterapia. Además, la radioterapia en algunos casos se emplea simultáneamente con la quimioterapia, en forma concomitante, sensibilizando las células tumorales al efecto de la radiación, potenciando su eliminación. La radioterapia se utiliza en los cuidados paliativos para calmar el dolor y otros síntomas que pueden alterar la calidad de vida de los pacientes Por último la radioterapia también tiene un rol en cuidado de algunas lesiones benignas<sup>28,29</sup>

Los efectos adversos de la radiación pueden ocurrir durante el tratamiento o inmediatamente después, efectos agudos (Tabla 2), o pueden aparecer meses o años después, efectos tardíos (Tabla 3). Los efectos agudos en general desaparecen sin dejar secuelas en cambio los efectos adversos tardíos son permanentes.<sup>30</sup>

Tabla 2. Tabla de efectos agudos, durante la radioterapia e inmediatamente después<sup>28</sup>

Región	Síntomas
<b>Generales</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cansancio, poca energía.</li> <li>• Poco apetito.</li> </ul>
<b>Piel</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eritema.</li> <li>• Hiperpigmentación.</li> <li>• Ulceración.</li> <li>• Caída del cabello.</li> <li>• Cefalea.</li> </ul>
<b>Cerebro</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Náuseas – Vómitos.</li> <li>• Somnolencia</li> </ul>

Región	Síntomas
<b>Cabeza y cuello</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mucositis, Ulceración de mucosa, dolor para comer.</li> <li>• Sequedad bucal.</li> <li>• Alteración del sabor.</li> <li>• Disfonía.</li> </ul>
<b>Tórax</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Neumonitis – tos seca, fiebre, disnea.</li> <li>• Esofagitis.</li> <li>• Disfagia.</li> <li>• Náuseas, vómitos</li> <li>• Distensión abdominal.</li> </ul>
<b>Abdomen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diarrea.</li> </ul>
<b>Pelvis</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diarrea.</li> <li>• Cistitis, dolor al orinar.</li> <li>• Aumento de frecuencia de orina.</li> </ul>

Tabla 3. Efectos tardíos <sup>29</sup>

Región	Síntomas
<b>Cerebro</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alteración memoria tempranas.</li> <li>• Disminución capacidad intelectual.</li> <li>• Edema cerebral.</li> </ul>
<b>Cabeza y cuello</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Daño a dentadura secundario a sequedad y falta de higiene.</li> <li>• Disfagia.</li> <li>• Rigidez cuello.</li> </ul>
<b>Tórax</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Linfedema submentoniano: papada.</li> <li>• Fibrosis pulmonar.</li> <li>• Disminución de capacidad pulmonar.</li> <li>• Estenosisesofágica.</li> <li>• Distensión abdominal.</li> <li>• Intolerancia a alimentos.</li> <li>• Diarrea frecuente.</li> <li>• Ulceración gástrica.</li> <li>• Insuficiencia renal.</li> <li>• Insuficiencia hepática.</li> </ul>
<b>Abdomen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Obstrucción intestinal.</li> <li>• Distensión abdominal.</li> <li>• Intolerancia a alimentos.</li> <li>• Diarrea frecuente.</li> <li>• Cistitis, hemorrágica.</li> <li>• Rectitis hemorrágica.</li> </ul>
<b>Pelvis</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Obstrucción intestinal.</li> </ul>

## 6.7 Quimioterapia.

La quimioterapia consiste en la administración de fármacos antineoplásicos que provocan la destrucción de las células tumorales, al obstaculizar sus funciones, incluida la división celular, se emplea ante todo para el tratamiento de neoplasias generalizadas, aunque a veces se utiliza para lesiones localizadas como coadyuvante de otros tratamientos. El tratamiento, su duración, dosis, fármacos, etc. dependen de factores tan diversos como el tipo de cáncer, su localización, estado general del paciente.<sup>3</sup>

Cuando la quimioterapia se administra oralmente o se inyecta en una vena o músculo, los medicamentos ingresan en el torrente sanguíneo y pueden llegar a células cancerosas en todo el cuerpo (quimioterapia sistémica). Cuando la quimioterapia se coloca directamente en el líquido cefalorraquídeo, un órgano o una cavidad corporal como el abdomen, los medicamentos afectan principalmente las células cancerosas de esas áreas (quimioterapia regional). La forma de administración de la quimioterapia depende del tipo y el estadio del cáncer que está siendo tratado.<sup>2</sup>

Algunos medicamentos de quimioterapia que se emplean con más frecuencia para el cáncer de pulmón son:

### **Paclitaxel**

El Paclitaxel (Taxol) es un fármaco utilizado para la terapia contra el cáncer de pulmón, pertenecen a la familia de los taxoides, una clase de antineoplásicos. El nombre taxoides se refiere a compuestos, naturales o modificados, que tienen un taxano en su estructura (figura 3). El paclitaxel (Taxol®, NSC 125973) se extrajo a fines de la década de 1960 de la corteza de Tejo del Pacífico, *Taxus brevifolia*<sup>5</sup> su mecanismo de acción es causar la estabilización de los microtúbulos, bloqueando la progresión del ciclo celular en la fase G2 / M, inhibiendo la proliferación e induciendo apoptosis celular, su eficacia a menudo incluye inconvenientes. Uno de estos es la resistencia a los medicamentos. El tratamiento prolongado con PTX puede inducir un fenotipo de resistencia a múltiples medicamentos, que representa un obstáculo grave en el tratamiento.<sup>4</sup>

Algunos otros medicamentos utilizados en quimioterapia:

**Carboplatino:** El carboplatino actúa como un agente alquilante bifuncional, de la misma manera que el cisplatino. El carboplatino atraviesa fácilmente la membrana celular. Una vez dentro de la célula, la estructura de anillo de carboplatino es hidroxilado por el agua para formar la fracción activa. La cual sufre una serie de reacciones electrofílicas con diversos grupos químicos que resultan en uniones de tipo covalente (alquilación). Estas interacciones ocurren como entrecruzamiento en una o ambas cadenas de DNA, acción que impide su funcionamiento apropiado y que da lugar al efecto citotóxico Antineoplásico para carcinoma de ovario de origen epitelial, carcinoma pulmonar microcítico, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello.

**Cisplatino:** Antineoplásico indicado para carcinoma pulmonar, está indicado en pacientes con cáncer pulmonar, tanto en el tipo histológico de células pequeñas como en el de células no pequeñas, en tratamiento combinado con medicamentos quimioterapéuticos aprobados o como adyuvante a la cirugía apropiada y/o procedimientos radioterapéuticos

**Metrotexato:** inhibe competitivamente la dihidrofolato-reductasa, enzima responsable de convertir el ácido fólico a tetrahidrofolato, el cofactor necesario para la transferencia de un carbono en muchas reacciones metabólicas, particularmente necesario para la síntesis de las purinas y pirimidinas necesarias para la proliferación celular. Es utilizado para el cáncer de pulmón en especial carcinoma de células pequeñas.

**Etopósido:** El etopósido actúa al bloquear la acción de una enzima en células llamadas topoisomerasa, necesarias para la replicación celular y el crecimiento tumoral. Las células necesitan esta enzima para mantener el ADN en la forma adecuada cuando se están dividiendo. El bloqueo de esta enzima provoca rupturas en el ADN, lo cual causa la destrucción de las células cancerosas. esta Esta aceptado en el tratamiento de, carcinoma de células pequeñas del pulmón.

## 6.8 Agentes antineoplásicos derivados de fuentes naturales.

Los componentes fenólicos constituyen uno de los grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal que forman parte importante de la dieta humana. Dentro de la clasificación general se encuentran los fenoles, ácidos fenólicos y flavonoides, estos constituyen un amplio grupo de sustancias químicas consideradas metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes propiedades y estructuras químicas, actualmente este grupo de componentes han sido de interés farmacéutico, por su contribución en la salud humana. El hombre ha empleado las plantas como tratamiento contra el cáncer desde hace más de 3,500 años, y en la actualidad se han reportado más de 3,00 especies de plantas para tratar esta patología.<sup>16,17</sup>

A pesar de cierto escepticismo con que muchas veces han sido catalogadas muchas plantas han sido de utilidad para la búsqueda actual de nuevos fármacos. las plantas tienen una larga historia en el tratamiento del cáncer, las investigaciones realizadas desde el producto natural hasta la obtención de la forma activa de la planta es considerada el ciclo más completo de una planta para el tratamiento del cáncer, un ejemplo de esto es el Taxol (Paclitaxel) diterpeno figura 3, inicialmente se aisló de la corteza de *Taxus brevifolia*, fue hasta 1966 que los laboratorios de Monroe Wall aislaron el compuesto responsable de la actividad citotóxica y lo bautizaron con el nombre de Paclitaxel (taxol, nombre comercial).<sup>17, 18, 19</sup>

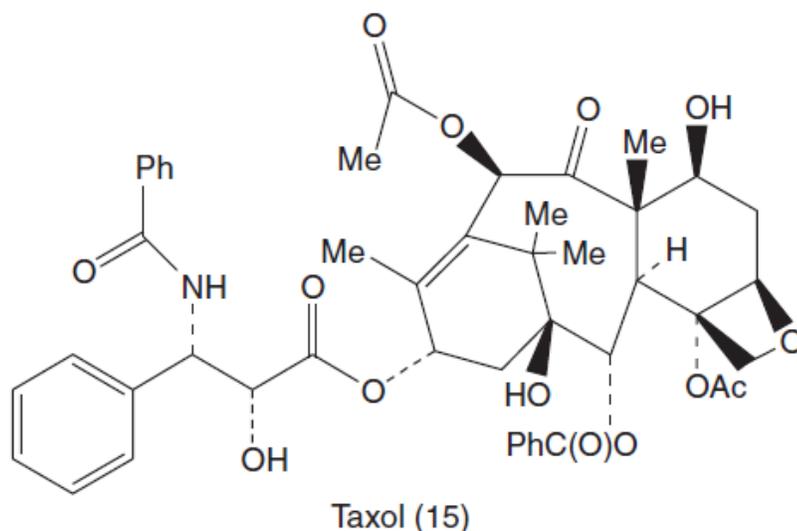


Figura 3. Estructura química del Paclitaxel<sup>19</sup>

## 7. Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos se clasifican en dos grupos, al primero se les conoce como ácidos hidroxicinámicos y lo podemos encontrar en diferentes grupos de alimentos como las cereales legumbres, semillas, verduras; los segundos, ácidos hidroxibenzoicos, son componentes de las estructuras complejas de los taninos hidrolizables y son menos abundantes y menos consumidos por los humanos.

Ambos grupos se caracterizan por tener un anillo aromático con al menos un grupo hidroxilo y un ácido carboxílico como grupo funcional.

Los ácidos hidroxicinámicos poseen un anillo bencénico asociado a una cadena de tres carbonos (Figura 4).<sup>48, 49</sup>

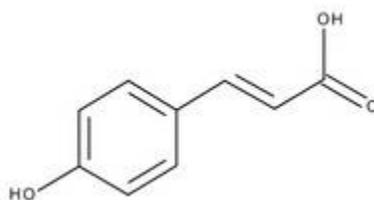


Figura 4. Estructura química del ácido hidroxicinámico<sup>49</sup>

Mientras que los ácidos hidroxibenzoicos derivados del ácido benzoico comparten la estructura C6-C1 del ácido benzoico sobre la que se producen reacciones de hidroxilación y metilación. figura 5. <sup>49 61</sup>

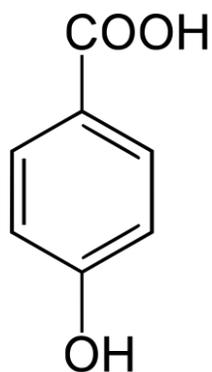


Figura 5. Estructura química de ácido hidroxibenzoico.<sup>61</sup>

### 7.1 Síntesis natural de compuestos fenólicos.

Las síntesis naturales de los compuestos fenólicos forman parte de uno de los grupos más abundantes dentro de los metabolitos secundarios. Esta síntesis se da principalmente en la planta por medio de rutas como el ácido shikimico y la del acetato-malonato.<sup>48</sup>

### 7.2 Lugar de la síntesis.

La síntesis de compuestos fenólicos tiene lugar en todos los órganos de la planta desde su más temprana edad.

Después de haber sido sintetizados en el citoplasma, la mayor parte se acumula en vacuolas o en el apoplasto, quedando solo una pequeña parte en el citoplasma. Así, los compuestos fenólicos se transfieren entre los diferentes órganos de la planta.<sup>58</sup>

### 7.3 Ruta biosintética.

La ruta del ácido shikímico es la más importante para originar compuestos fenólicos, se inicia con una condensación entre el fosfoenolpiruvato (PEP) y la D-eritrosa-4-fosfato para generar el ácido 3-desoxi-D-arabino-heptulosónico 7-fosfato (DAHP por su nombre en inglés) (Figura 6).

El ácido 3-deshidroquínico puede entonces reducirse con la ayuda de NADH<sup>+</sup> a ácido quínico, una sustancia que se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza ya sea como tal o formando parte de algún sustrato (ésteres, alcaloides como la quinina, etc.) El ácido 3-deshidroquínico a su vez puede deshidratarse para transformarse en ácido 3-

deshidrosikímico, el cual se transforma en shikímico gracias a una reacción de oxidación (Figura 6). El ácido 3-deshidrosikímico no solamente se transforma en el shikímico, sino que puede también deshidratarse y formar ácido protocatecuico u oxidarse y formar ácido gálico. En ambos casos, los procesos están favorecidos debido a la formación de un sistema aromático. El ácido gálico es un componente de los taninos (*galotaninos*) como la pentagalolilglucosa, presente en plantas. Los taninos se han empleado desde hace milenios en el curtido de pieles gracias a su capacidad de producir entrecruzamiento de proteínas. Asimismo, contribuyen a la astringencia de algunas bebidas, como el té, el café, vinos, etc. El ácido shikímico puede transformarse, con la ayuda de ATP y fosfoenolpiruvato en diferentes etapas, en ácido corísmico, que es el precursor, entre muchos otros sustratos, de los aminoácidos L-fenilalanina y L-tirosina.<sup>59</sup>

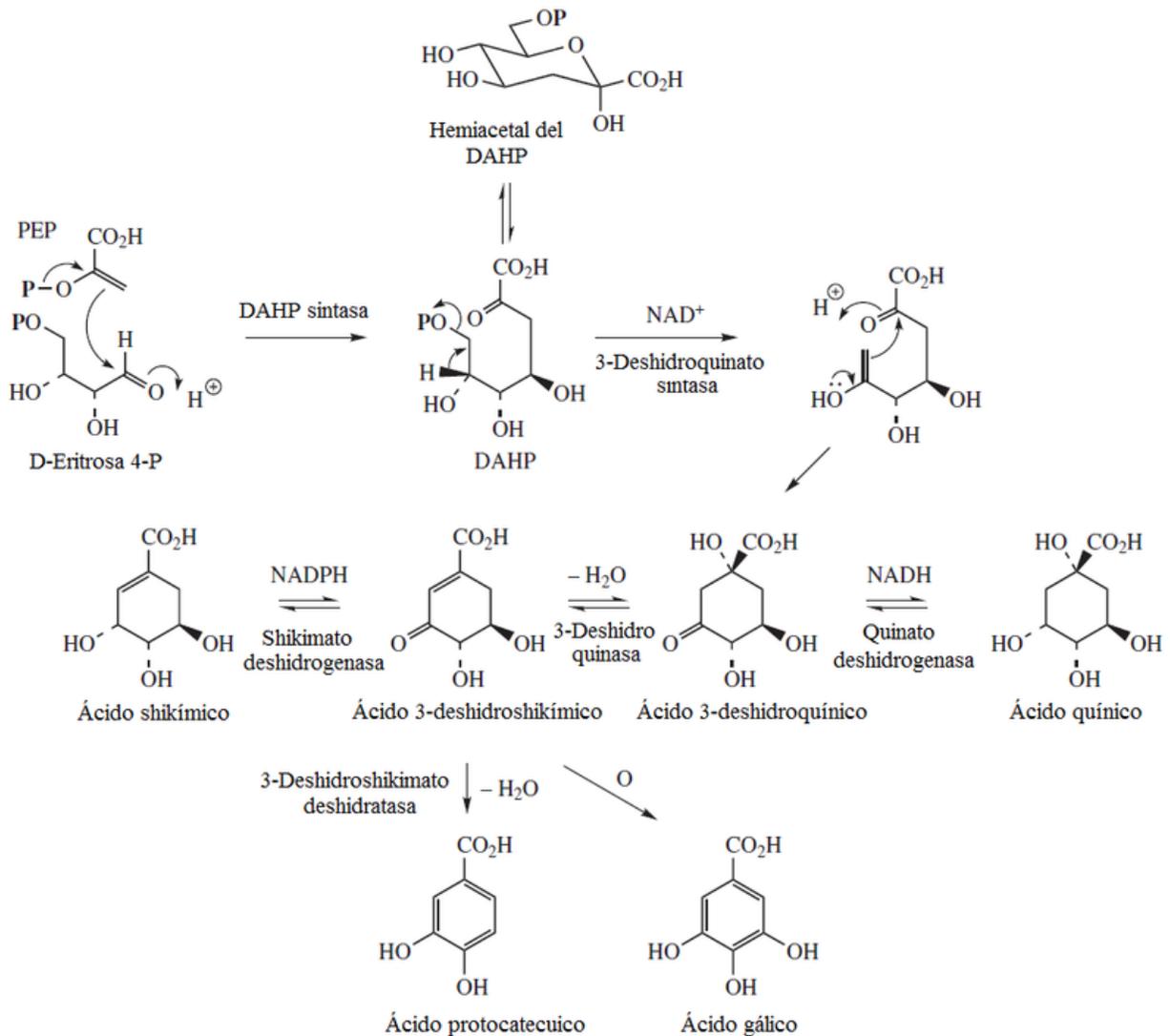


Figura 6. Biosíntesis del ácido shikímico a partir de fosfo enol pirúvico y eritrosa 4 fosfato.<sup>59</sup>

## 7.4 Ácido elágico

El ácido elágico es un fenol antioxidante natural que se encuentra en numerosas frutas y verduras, en particular granada, caqui, frambuesa, frambuesa negra, fresa, melocotón, plumas, nueces (nueces, almendras) y vino. Las propiedades antiproliferativas y antioxidantes del ácido elágico han impulsado la investigación sobre sus posibles beneficios para la salud.<sup>1</sup>

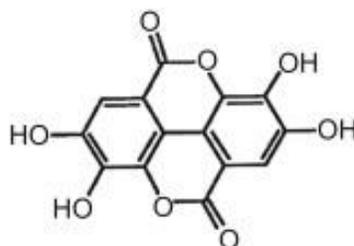


Figura 7. Estructura química del Ácido Elágico.<sup>46</sup>

El ácido elágico es una molécula de naturaleza fenólica que puede estar presente en forma libre en algunas especies vegetales como producto del metabolismo de las mismas, o bien puede encontrarse a partir de sus precursores, los elagitaninos.<sup>39</sup> El subgrupo de los elagitaninos pertenece a un gran grupo de compuestos polifenólicos conocidos como taninos, que también provienen del metabolismo secundario de los vegetales. Los elagitaninos poseen en su estructura un grupo conocido como HHDP (6´6 dicarbonil 3´3, 4´4, 5´5 hexahidroxidifénico o bien, ácido hexahidroxidifénico), el cuál es característico de los elagitaninos, y que cuando se encuentran en presencia de ácidos o bases fuertes se hidroliza y se libera el ácido HHDP de los elagitaninos, el cual, sufre una reacción de lactonización espontánea que da origen a la molécula conocida como ácido elágico.<sup>3</sup> (Figura 7).<sup>46</sup>

El ácido elágico es una molécula muy estable (tiene un punto de fusión de 350°) y por su naturaleza fenólica tiende a reaccionar formando complejos con otras moléculas como proteínas, alcaloides y polisacáridos. En vista de éstas propiedades que posee el ácido elágico con el paso del tiempo se han realizado distintos trabajos de investigación. Se ha encontrado que el ácido elágico posee propiedades que actúan en contra de agentes que pueden resultar nocivos para la salud, como lo son los radicales libres que son los responsables de procesos como la oxidación que se puede representar como el proceso de envejecimiento de las células del organismo, la presencia de radicales libres también representa un riesgo en la formación tumores y distintas formas de cáncer, el ácido elágico se ha reportado como un producto efectivo en contra de estos agentes como se observa en la figura 8 .<sup>40</sup>

Los fitoquímicos fenólicos como el ácido elálgico son componentes importantes de frutas y verduras y son en parte responsables de sus efectos beneficiosos para la salud frente a enfermedades crónicas ligadas a la oxidación como el cáncer y las enfermedades cardiovasculares. Se cree que los fitoquímicos como el ácido elálgico funcionan contrarrestando los efectos negativos del estrés oxidativo actuando directamente como antioxidantes o activando / induciendo sistemas de enzimas antioxidantes celulares. Estos modelos se limitan a explicar las funciones más completas relacionadas con los antioxidantes de los fitoquímicos en el mantenimiento de la homeostasis celular específica que contribuye a su modo de acción preventivo y sus efectos beneficiosos en diversos sistemas biológicos y tipos de células.<sup>41</sup>

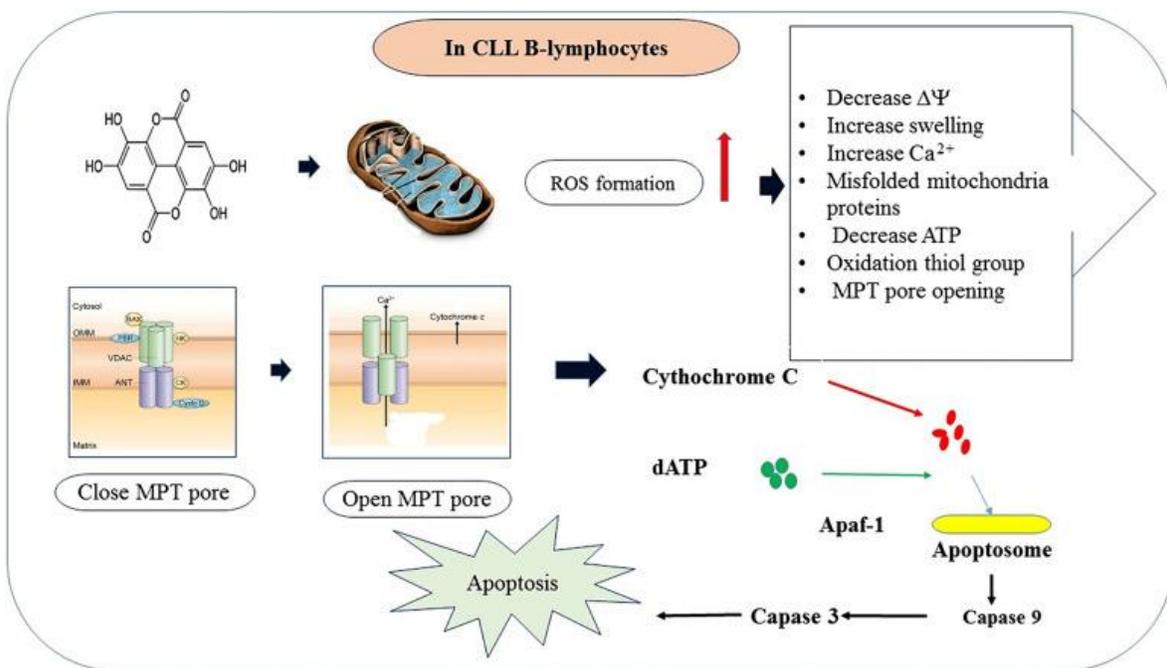


Figura 8. El mecanismo de acción del ácido elálgico descrito por Salimi et al. en linfocitos B de CLL <sup>41</sup>

### 7.5 Síntesis de ácido elálgico

Químicamente, el ácido elálgico (Fig.1) es 2,3,7,8- tetrahidroxi-benzopirano- [5,4,3-cde]-benzopiran-5,10-diona, C<sub>14</sub>H<sub>6</sub>O<sub>8</sub>, con un peso molecular de 302,19. Puede prepararse a partir de fuentes naturales (corteza de eucalipto, nueces, etc.) por oxidación con persulfato de sodio del ácido gálico o por hidrólisis ácida de tanino crudo. En la naturaleza, el ácido elálgico puede presentarse en forma libre, pero más comúnmente en forma de elagitarminas como ésteres del análogo del ácido difénico en la glucosa.<sup>42</sup>

El ácido elágico se forma por oxidación y dimerización del ácido gálico; por tanto, es una dilactona del dímero del ácido gálico. La oxidación se acelera con las condiciones alcalinas, mientras que la hidrólisis y la lactonización se ven favorecidas por las condiciones ácidas postulan dos vías para la formación de ácido gálico; mediante B-oxidación de fenilpropanoide y mediante deshidrogenación de ácido shikímico en *Rhus* y *Acer*.<sup>43, 44</sup>

La ruta preferencial puede estar determinada por la edad de la hoja, aunque no se realizaron estudios de temperatura. La ruta de la fenilalanina al ácido cinámico a través del ácido feniláctico es una posible ruta en las fresas. La actividad de la enzima deslaminante fenilalanina amoniaco liasa (PAL) corresponde a la acumulación de antocianina en frutos de fresa y de flavonoides y ácidos cinámicos en discos de hojas de fresa, sin embargo, no se ha determinado la relación entre la actividad PAL y la producción de ácido elágico. Los taninos y los polifenoles asociados en extractos de plantas han sido ampliamente estudiados por sus propiedades medicinales, antimutagénicas y anticancerígenas. La geraniina, por hidrólisis, también produce ácido gálico, que puede formar un dímero que puede convertirse en ácido elágico.<sup>45</sup>

## 7.6 Ácido tánico

Los taninos son biomoléculas polifenólicas con esqueletos de carbohidratos que se encuentran en una amplia gama de plantas. El ácido tánico es un tanino específico que contiene formalmente 10 unidades de galoílo (3,4,5-trihidroxifenilo) que rodean un centro de glucosa, Figura 9. El ácido tánico comercial, sin embargo, consta de moléculas con 2 a 12 restos galoílo.<sup>55</sup>

El ácido tánico no contiene grupos carboxilo, pero es débilmente ácido debido a la multiplicidad de hidroxilos fenólicos. Los hidroxilos también hacen que sea extremadamente soluble en agua.<sup>56</sup>

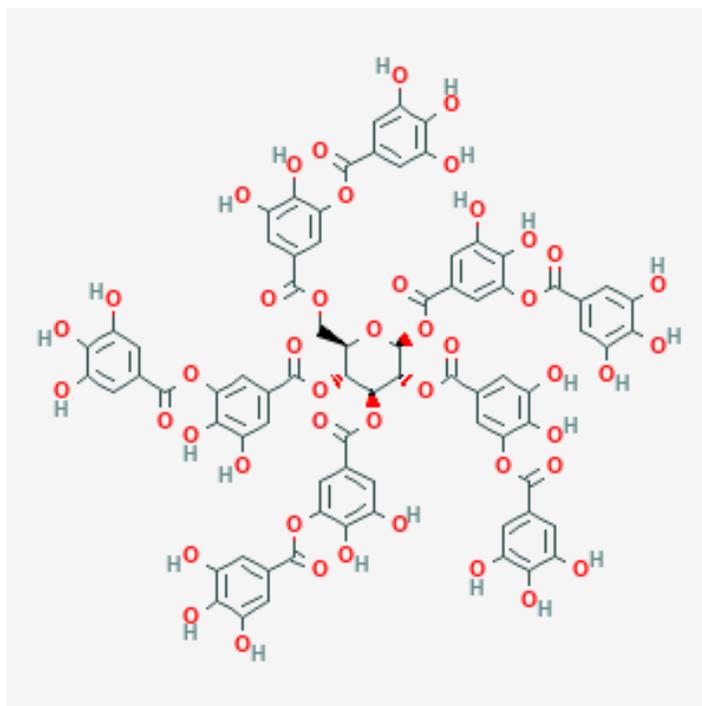


Figura 9. Estructura química del ácido Tánico.<sup>56</sup>

El ácido tánico se obtiene de forma natural o por síntesis química y se usa en los sectores farmacéutico y alimenticio como aditivo, y en la industria de curtiembres, como intermediario en la tinción del cuero mediante su unión con las proteínas de la piel animal<sup>4</sup> Otros usos comerciales son, como fijador de tintes y como intermedio químico y reactivo en la fabricación de tintas, caucho y cuernos de imitación y caparazones de tortuga, el encolado de papel, el procesamiento de alimentos y vinos y la producción de ácido gálico y pirogalol. También se utiliza para clarificar cerveza y vino, en fotografía, como reactivo químico en laboratorios analíticos y en preparaciones farmacéuticas.<sup>53</sup>

Así mismo ha mostrado diversas propiedades bioquímicas que, dentro del individuo que las consume, se traducen en diversos beneficios para la salud (por ejemplo, Anti-diabéticas, anti-mutagénica, antimicrobia<sup>54</sup>

### 7.7 Síntesis de ácido tánico.

La química del ácido tánico es complicada cuando se obtiene de origen natural ya que consiste en una mezcla de sustancias complejas. Aunque muchas especies de plantas contienen taninos, el ácido tánico comercial tiene su origen en agallas turcas recolectadas de las ramitas jóvenes de *Quercus infectoria*. *Quercus infectoria*, es una especie de roble que está estrechamente relacionado con el roble cerris, clasificado con él en la Sección Cerris, una sección del género caracterizada por tener brotes rodeados de pelos suaves,

con puntas de pelos en los lóbulos de la hoja, y las bellotas que maduran en unos 18 meses.

Las agallas contienen 36-58 % de tanino estas en polvo se extraen con éter, alcohol y agua. El ácido tánico es soluble en agua. Se obtiene un rendimiento del 50 al 70 por ciento de ácido tánico del extracto de agua.

El ácido tánico se puede obtener como un polvo amorfo esponjoso o denso, de color blanco amarillento a marrón claro. Se caracteriza además por tener una reacción ácida en agua, esencialmente sin olor y un sabor fuertemente astringente. El polvo contiene aproximadamente un 10 por ciento de agua.<sup>51, 52</sup>

### 7.8 Ácido gálico

El polifenol, ácido gálico (ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico), figura 10, es un compuesto con reconocida actividad antioxidante que reduce las especies reactivas de oxígeno (ROS) mediante mecanismos antirradicales o por quelación de metales<sup>47</sup>

Un antioxidante es un compuesto químico que hallándose presente a bajas concentraciones con respecto a las de un sustrato oxidable retarda o previene la oxidación de dicho sustrato. De igual forma se denomina como compuestos que protegen al sistema celular de efectos potencialmente perjudiciales en los procesos que puedan causar una oxidación excesiva<sup>48</sup>

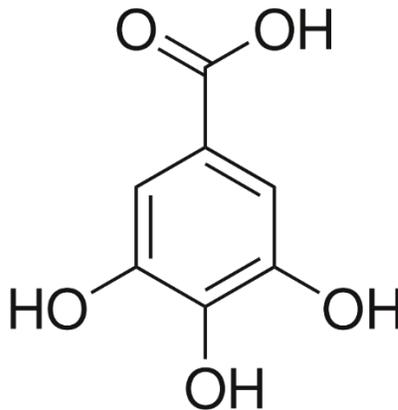


Figura 10. Estructura química del ácido gálico.<sup>47</sup>

### 7.9 Síntesis ácido gálico

Este ácido se obtiene directamente del alimento o por hidrólisis del ácido tánico mediante una reacción con la enzima tanasa, que cataliza la hidrólisis de los enlaces tipo éster presentes en los galotaninos. Asimismo, se le atribuyen varios efectos biológicos, que van desde la actividad antiinflamatoria, antioxidante y antibiótica, hasta la protección cardiovascular y anticancerígena.<sup>49,50</sup>

## **8. Justificación.**

El cáncer es un conjunto de patologías que tienen en común una proliferación celular exacerbada, por lo cual, la mayoría de las terapias se basan en frenar la división celular de las células cancerosas e inducir la muerte.

El cáncer de pulmón hoy en día es uno de los principales causantes de muerte por cáncer. Asociado particularmente a la presencia de agentes mutagénicos y cancerígenos en el ambiente, la poca eficacia y especificidad de los fármacos, así como la resistencia por parte de las células cancerígenas a los fármacos quimioterapéuticos, sigue siendo un obstáculo importante para el tratamiento eficaz del cáncer. Además del número importante de efectos adversos que complican el apego al tratamiento.

Se ha observado que los ácidos fenólicos, particularmente los de origen natural, poseen un efecto quimiopreventivo y citotóxico,<sup>4</sup> de ahí la importancia de realizar estudios con compuestos como el AG, AT y AE en modelos *in vitro* de diversos tipos de cáncer

Por lo anterior se pretende determinar el efecto citotóxico de los ácidos fenólicos, AG, AT y AE, en la línea celular de cáncer de pulmón, A549, con la finalidad de determinar su efecto citotóxico, y la pauta para estudios posteriores de su potencialidad contra el cáncer.

## **9. Hipótesis.**

Los ácidos fenólicos, ácido gálico, ácido elágico y ácido tánico, tendrán un efecto sobre la viabilidad celular en las células A549 de cáncer pulmonar.

## **10. Objetivos.**

### **10.3 Objetivo general**

Determinar el efecto citotóxico *in vitro* de los ácidos fenólicos, ácido gálico, ácido elágico y ácido tánico en células de cáncer pulmonar A549.

### **10.4 Objetivos específicos.**

10.4.1 Realizar el cultivo de las células A549 de cáncer pulmonar

10.4.2 Evaluar el efecto sobre la viabilidad celular *in vitro* de los ácidos gálico, ácido elágico y ácido tánico en células de cáncer pulmonar A549.

10.4.3 Determinar la concentración inhibitoria 50 (CI<sub>50</sub>) de los ácidos fenólicos, ácido gálico, ácido elágico y ácido tánico en células de cáncer pulmonar A549

## **11. Procedimiento experimental.**

### Reactivos

Los reactivos adquiridos de diferentes proveedores, como los ácidos gálico (sigma 398225), tánico (sigma 403040-50G), elágico (Sigma-Aldrich-E2250) DMEM/F-12 (Gibco 1640), Suero Fetal Bovino (SFB) (Biomed), y azul de tripano (Gibco 15250-061).

## **12. Origen y mantenimiento de la línea celular A549.**

La línea celular A549 (ATCC CCL-1855) es un tipo de célula epitelial, derivado de tejido de pulmón de un paciente masculino, a partir de un carcinoma. Estas células se mantuvieron en medio DMEM/F-12 suplementado con 10% de Suero Fetal Bovino (SFB), con atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub>, a temperatura de 37 °C y con 95% de humedad.

Los cultivos se mantuvieron mediante la adición de medio fresco o sustitución del medio. Alternativamente, los cultivos se propagaron, y se realizaron pases mediante tripsinización y centrifugación, con su posterior cultivo de 2-4 x 10<sup>5</sup> células/5 ml.

El número y la viabilidad de las células se determinó por la técnica de exclusión de azul de tripano.

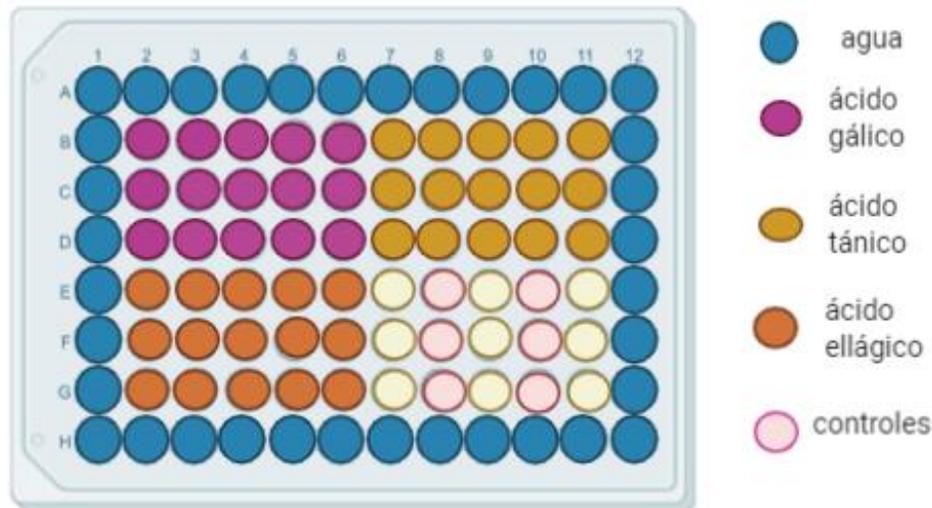
## **13. Evaluación del efecto citotóxico**

El efecto citotóxico de los ácidos fenólicos se determinó sobre la línea celular de cáncer de pulmón A 549, a diferentes concentraciones: 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µg/ml, para generar una curva de concentración-respuesta. Como control positivo se incluyó el taxol a 5nM

Se incubó por 18-20 horas la placa de 96 pozos con 2500 células A549 por pozo.

Después se colocó en cada uno de los pozos concentraciones ascendentes de los tres diferentes ácidos, así como de los dos controles utilizados. A los pozos B, C y D de la columna 2 (figura 11) se colocaron células y ácido gálico en concentración ascendente 0.01, 0.1, 1, 10, 100 mg/ml, a los pozos B, C y D, pero de las columnas 7, 8, 9, 10, 11, se le agregó ácido tánico a las mismas concentraciones. En los pozos E, F y G del 2 AL 6 se agregaron células con ácido elágico a las mismas concentraciones. Como se observa en la figura 14 cada concentración con cada ácido fenólico se hizo por triplicado. En las columnas 8 E, F y G se agregaron solo células con medio de cultivo el cual fue considerado el control negativo. En los pozos 10 E, F y G se agregaron células con taxol a 5nM el control positivo. Una vez que se realizó el tratamiento, la placa se incubó por

48 horas a una atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub>, a temperatura de 37 °C y con 95% de humedad. La evaluación se realizó por triplicado,



**Figura 11. Diseño general de los ensayos de citotoxicidad de los diferentes ácidos.** Se muestra la región reservada para el control negativo y positivo y los diferentes pozos destinados para los ácidos fenólicos.

#### **14. Revelado por la técnica de tinción con rojo neutro.**

Se preparó una solución stock de rojo neutro a una concentración de 1 mg/ml con agua estéril. Posteriormente se sonicó durante 5 minutos y se centrifugó a 180 rpm durante 10 minutos. A partir de esa solución se tomaron 50 µl para cada 1000ul de medio de cultivo, a esta solución se le denominó medio de tinción.

Después de la incubación de 48 h de nuestros compuestos en las células A549, se retiró el medio de cultivo, se lavaron dos veces con 100 µl de PBS. Posteriormente se agregaron 100 µl del medio de tinción, preparado previamente, a cada pozo y la placa se incubó por 3 horas a condiciones estándar.

Posterior a la incubación, se retiró el medio de tinción de la placa y se eluyó el colorante con 100 ul de una solución: etanol al 50% - ácido acético 2%.

Finalmente se incubó la placa 10 minutos y se leyó espectrofotométricamente a 560 nm

## 15. Análisis de resultados

Para cada determinación se emplearon ensayos por triplicado, donde el resultado de cada uno correspondió al promedio y desviación estándar.

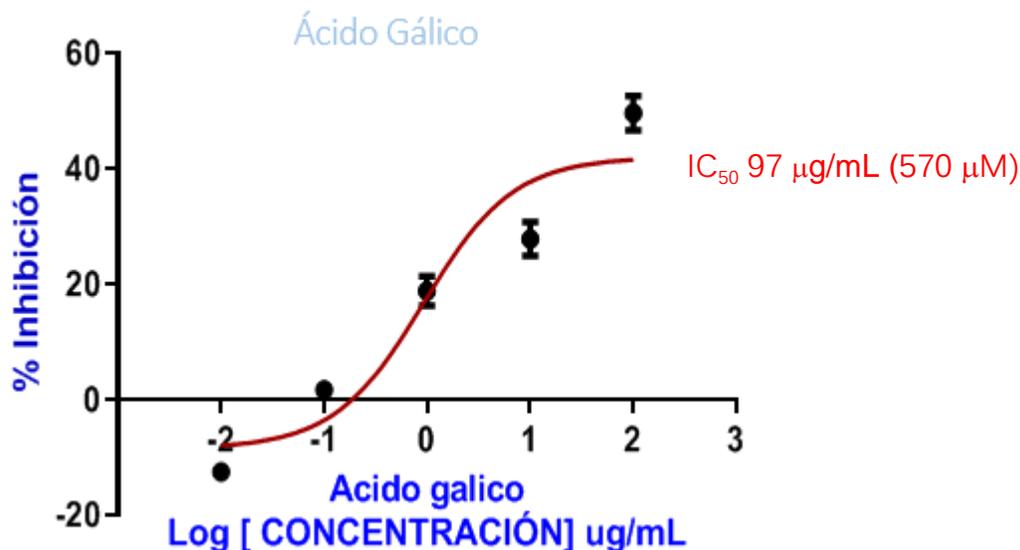
Posteriormente, utilizando el programa estadístico GraphPad Prism 8.0 Se procedió a realizar una regresión no-lineal de la curva concentración-respuesta obtenida y con ello calcular la concentración inhibitoria media ( $IC_{50}$ ) para, el ácido gálico, ácido elágico y para el ácido tánico.

## 16. Resultados y Discusión.

Los resultados de la evaluación del efecto citotóxico de los compuestos fenólicos en la línea celular A549, se presentan a continuación en forma de gráficos las curvas concentración-respuesta y los datos de la regresión no-lineal

### 16.1 Acido Gálico

De la gráfica 2 se desprende que el ácido gálico aumenta su porcentaje de inhibición celular conforme se aumenta la concentración, mostrando un efecto dependiente de la misma. Sin embargo, se determinó una  $IC_{50}$  97  $\mu\text{g/mL}$  (570  $\mu\text{M}$ ) a las 48 h. Lo cual indica que las células A549 no son sensibles al ácido gálico. Lo anterior difiere con algunos de los estudios realizados en otros linajes celulares, donde el ácido gálico mostró un efecto relevante, como lo observado en células de pulmón EBC-1 y células de cáncer de ovario, mostrando  $CI_{50}$  de 60  $\mu\text{g/ml}$  y 4.7  $\mu\text{g/ml}$  respectivamente<sup>14,15</sup>. Igualmente observado en el estudio de Sánchez-Carranza, donde el ácido gálico mostró un efecto significativo en células de Hepatocarciona Hep3B con  $IC_{50}$  de:  $35.8 \pm 9 \mu\text{M}$ , al igual que células de cáncer de próstata PC3 con con  $IC_{50}$  de:  $58.7 \pm 7 \mu\text{M}$ ; Pero no así en células HeLa o Caski, con  $IC_{50}$  de:  $51.72 \pm 8 \mu\text{M}$ ; respectivamente.

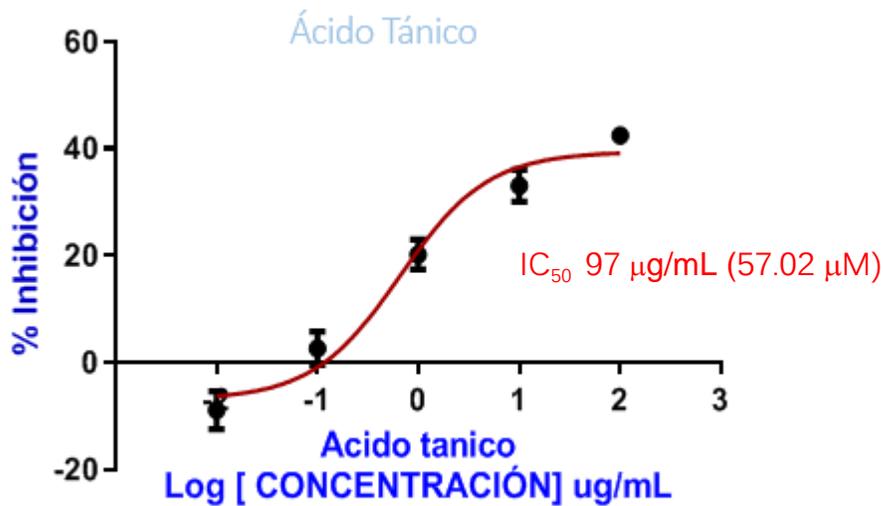


Gráfica 2. Porcentaje de inhibición celular contra logaritmo de concentración de ácido gálico a las 48 horas

### 16.2 Ácido Tánico

Por otro lado, el ácido tánico mostró un comportamiento dependiente de la concentración, inhibiendo la proliferación celular con valores de IC<sub>50</sub> 57.02 µM a 48 horas, respectivamente como se aprecia en la gráfica 3. La literatura nos muestra concentraciones IC<sub>50</sub> de ácido tánico cercanas a 40 µM en células de la línea celular PC3 y LNCaP. En este estudio realizado por Karakurt se investigó los efectos del compuesto fenólico vegetal ácido tánico sobre las propiedades proliferativas metastásicas e invasivas de estos linajes celulares. Esta caracterización se realizó utilizando FT-IR Y NMR. La dosis de ácido tánico inhibió de forma dependiente la proliferación de células PC3 Y LNCaP con valores de IC<sub>50</sub> de 35.3 µM y 29,1 µM, respectivamente.

La concentración inhibitoria del ácido tánico ya ha sido evaluada en otros linajes celulares como células HeLa mostrando una IC<sub>50</sub> de 22 ± 3 µM, en células IHH ha presentado un IC<sub>50</sub> 24 ± 0.2 µM, no así para células Hep 3B ya que ha mostrado IC<sub>50</sub> de 11 ± 1.2 µM<sup>4</sup>



Grafica 3. Inhibición de la proliferación celular de A549 dependiente de la concentración de ácido tánico a las 48 horas.

### 16.3 Ácido elálgico

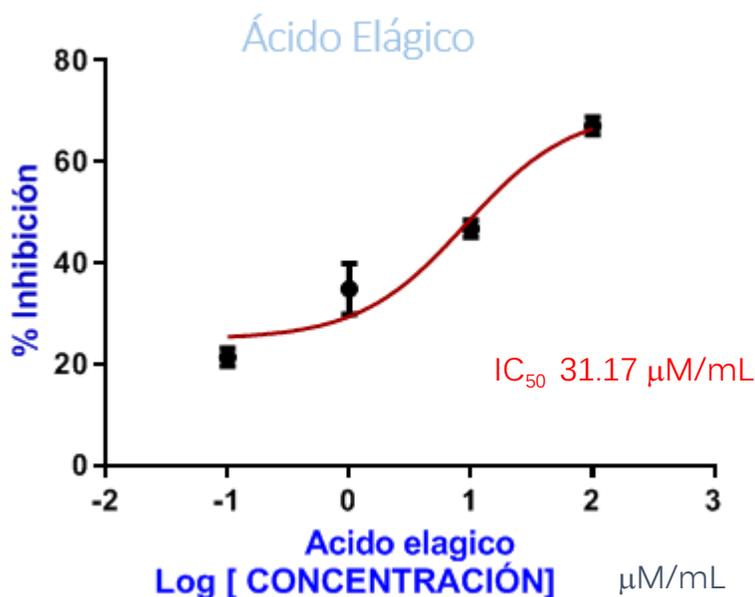
Por su parte, el ácido elálgico mostró un comportamiento concentración-respuesta como se muestra en la **gráfica 4**, arrojando una  $IC_{50}$  de  $31.17 \mu\text{M}$  a las 48 horas de exposición, la  $IC_{50}$  del ácido elálgico ya ha sido reportada en diferentes linajes celulares, y ha mostrado actividad potencial contra el cáncer cervicouterino y contra el VPH, mostrando  $IC_{50}$  de  $19.47 \mu\text{M}$ .<sup>11</sup>

La inhibición del ácido elálgico por sí solo y el efecto en conjunto con cúrcuma una planta de la familia Zingiberaceae distribuida en las regiones tropicales y subtropicales, utilizada en la industria alimentaria, en medicina y en cosmética, ya ha sido evaluada. Su colorante principal de la cúrcuma, es la curcumina, un polifenol con múltiples efectos medicinales<sup>57</sup>. La combinación del ácido elálgico y la cúrcuma mostro una  $IC_{50}$  de  $10.09 \mu\text{M}$  en células BHK-21 (fibroblastos renales) por el método basado en la reducción metabólica del bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5- difeniltetrazol (MTT) lo que nos dice el efecto del ácido elálgico puede verse inhibido o bien potenciado dependiendo de cómo y en que

sea utilizado. En este estudio la actividad del ácido elágico se ve potenciado cuando se utiliza en conjunto con la cúrcuma.

La viabilidad de las células DU145 de cáncer de próstata, también fue evaluada, en presencia de ácido elágico, mediante el ensayo MTT, probando tres concentraciones diferentes (5, 50, 100  $\mu\text{M}$ ). Después de 48 h de tratamiento con este, la concentración más baja examinada no demostró un efecto citotóxico significativo, en comparación con las células no tratadas que representan el grupo de control. Se observó una pérdida notable de vitalidad después del tratamiento con ácido elágico en las concentraciones más altas. En particular, la viabilidad celular se redujo en aproximadamente un 40 y 50% después de la exposición, respectivamente, a 50 y 100  $\mu\text{M}$ .<sup>64</sup>

Esta sensibilidad observada es específica del tipo celular, indicando mecanismos diferentes de acción entre los tres ácidos fenólicos estudiados, ya que se evaluaron en el mismo tipo celular. También indica que cada línea celular cancerosa, es sensible de diferente manera a los mismos compuestos, que se puede asociar al tipo de alteraciones genéticas o/y epigenéticas que cada linaje presente



Grafica 4. Porcentaje de inhibición contra logaritmo de concentración de ácido elágico en células A 549

Esta diferencia de sensibilidad entre los linajes celulares puede deberse a las propiedades intrínsecas de las células, es decir, al tipo de alteraciones celulares que modifican la respuesta a estas moléculas, por ejemplo: a la sobre-expresión de transportadores de eflujo, a variantes en los receptores o bien a alteraciones en la diana del compuesto, entre otros.

Resumiendo, como se pudo observar el ácido gálico presento una  $CI_{50} > 500 \mu M$ , lo que demuestra que el compuesto es poco efectivo en las células A549, refiriéndonos a la citotoxicidad. Por su parte, el ácido tánico indujo un efecto citotóxico promedio, obteniéndose una  $IC_{50}$  de  $57.02 \mu M$ . Sin embargo, el ácido elágico presento una  $CI_{50}$  de  $31.17 \mu M$ , mostrando un efecto relevante de citotoxicidad (tabla 3).

Esta diferencia de concentración, en un orden de más de 10 veces de magnitud entre el ácido gálico y el ácido elágico de la  $IC_{50}$ , puede deberse a características químicas o físicas de los diferentes fenoles, es decir, asociado a su estructura; así como al background genético/epigenético de las células evaluadas en este estudio. Por lo que se requiere profundizar en los aspectos de mecanismos de acción de estos ácidos fenólicos para proporcionar mayor evidencia de su acción

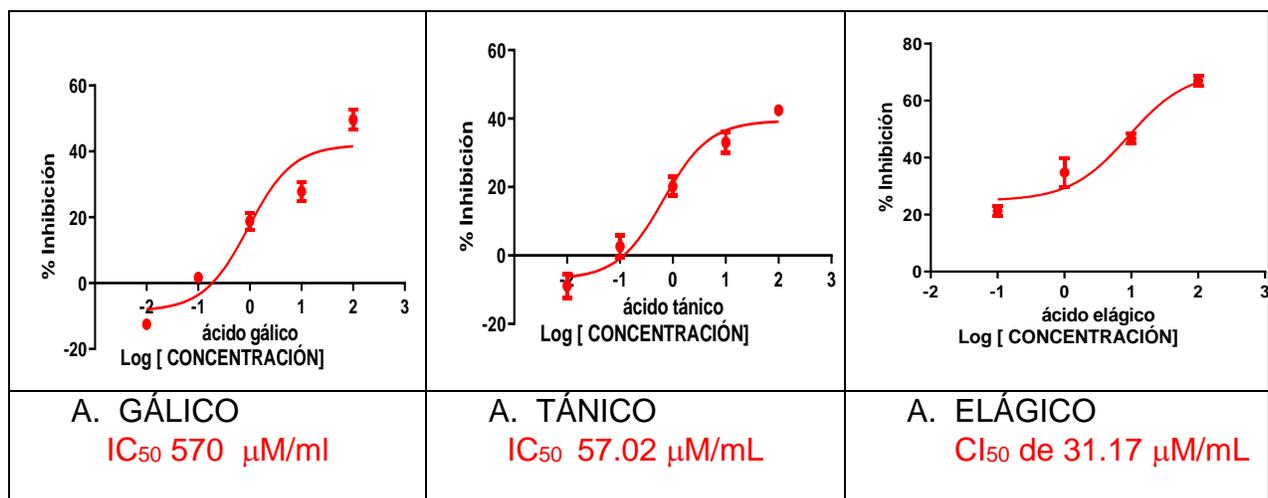


tabla 4. Se muestran las curvas dosis respuesta, del ácido gálico, ácido tánico, y ácido elágico, así como su concentración inhibitoria 50, a las 48 horas.

## **17. Conclusión.**

El ácido elágico modificó la viabilidad de las células A459, induciendo un efecto citotóxico relevante en las células A549 con una IC50 de 31.1  $\mu\text{M}$  a 48 horas. Indicando que las células A459 fueron más sensible a este ácido fenólico

## **18. Perspectivas**

Analizar el efecto del ácido elágico sobre el ciclo celular y muerte celular en las células A 549

## 19. Bibliografía.

1. Lisa M. Halvorson, Barbara L. Hoffman, John O Schorge, Karen D Bradshaw, Joseph I. Schaffer, Marlene M. Corton Williams *Ginecología*, 3e (2016) McGraw-Hill Education / Medical.
2. Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* 2007; 370(9590):890-9071
3. Jesús Suárez Campos, J. (2005). Paciente con tratamiento de quimioterapia. *Hospital Universitario Ramón y Cajal*, 12.
4. Sánchez-Carranza, J. N., Díaz, J. F., Redondo-Horcajo, M., Barasoain, I., Alvarez, L., Lastres, P., ... González-Maya, L. (2018). Gallic acid sensitizes paclitaxel-resistant human ovarian carcinoma cells through an increase in reactive oxygen species and subsequent downregulation of ERK activation. *Oncology Reports*, 39(6), 3007–3014. <https://doi.org/10.3892/or.2018.6382>
5. Teicher, B. A. (Ed.). (1997). *Cancer Therapeutics*. doi:10.1007/978-1-59259-717-8
6. Organización Mundial de la Salud. (5 de enero de 2021).
7. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. W H "Biología Celular y Molecular". 4th. Ed. Editorial Médica. Panamericana 2002.
8. Alva López, L. F., Corcho Verdugo, A., García-Sancho Figueroa, C., Salazar Flores, M., Rébora Togno, F., Franco Marina, F., ... López Luna, J. D. J. (2003). Epidemiología del Cáncer Pulmonar en México; Hallazgos por Imagen. *Revista Del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*, 16(4), 197–204.
9. Morantes, S., Perdomo, S., Carrillo, E., & Aristizábal Gutiérrez, F. (2013). Caracterización del perfil quimiosensibilidad y del estado de ampliación génica de un panel de líneas celulares de origen tumoral pulmonar. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 15(1), 42–51.
10. Maulida, H., Ajeng, M. A., Khairul, M. H., & Nuril, M. M. (2020). A Comparative Study of Gallic Acid, Ellagic Acid, Urolithin A, and Urolithin B with NF-κB Protein as Anti Type 2 Diabetes Mellitus by In Silico. *Journal of Smart Bioprospecting and Technology*, 01(02), 31–35. <https://doi.org/10.21776/ub.jsmartech.2020.001.02.2>
11. Kumar, D., Basu, S., Parija, L., Rout, D., Manna, S., Dandapat, J., & Debata, P. R. (2016). Curcumin and Ellagic acid synergistically induce ROS generation, DNA damage, p53 accumulation and apoptosis in HeLa cervical carcinoma cells. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 81, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.03.037>
12. Karakurt S, Adali O. Tannic Acid Inhibits Proliferation, Migration, Invasion of Prostate Cancer and Modulates Drug Metabolizing and Antioxidant Enzymes. *Anticancer Agents Med Chem*. 2016;16(6):781-9. doi: 10.2174/187152061666615111115809. PMID: 26555610.
13. Española, A. (2005). *Cáncer de pulmón Una Guía práctica Asociación Española Contra el Cáncer*.
14. Sachithanandam, V., Parthiban, A., Lalitha, P., Muthukumaran, J., Jain, M., Elumalai, D., ... Ramachandran, R. (2020). Biological evaluation of gallic acid and quercetin derived from *Cerriops tagal* : insights from extensive in vitro and in silico

- studies . *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 0(0), 1–13. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1828173>
15. Ohno, Y., Fukuda, K., Takemura, G., Toyota, M., Watanabe, M., Yasuda, N.,... Fujiwara, H. (1999). Inducción de apoptosis por ácido gálico en células cancerosas de pulmón. *Medicamentos contra el cáncer*, 10 (9), 845–852. doi: 10.1097 / 00001813-199910000-00008
  16. Porras, A., & López, A. (2009). Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, Vol. 3, pp. 121–134. Retrieved from [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf)
  17. Vega-ávila, E., Velasco-lezama, R., & Jiménez-estrada, M. (2006). Las plantas como fuente de compuestos antineoplásicos. Revisión. *Bioquímica*, 31(3), 97–111.
  18. LAZA LOACES, Dayami; RODRIGUEZ LUIS, Iraida y SARDINA CABRERA, Guillermo. Descubrimiento y desarrollo de agentes anticancerígenos derivados de plantas medicinales. *Rev Cubana Plant Med.* 2003, vol.8, n.3. ISSN 1028-4796.
  19. Cragg GM, Nexman DJ. Descubrimiento y desarrollo de agentes antineoplásicos a partir de fuentes naturales. *Cancer Investig* 1999;
  20. Bases moleculares wha
  21. Globocan 2020. Organización Mundial de la Salud. Fecha de consulta: 2020 diciembre. Disponible en: <https://www.iarc.fr/en/media-centre/iarcnews/2010/globocan2020.php>
  22. Duggan MA, Anderson WF, Altekruse S, Penberthy L, Sherman ME. The surveillance, epidemiology, and end results (SEER) program and pathology: toward strengthening the critical relationship. *Am J Surgical Pathol* 2016;40(12):e94-e102.
  23. Cell, G. N., Cancer, L., Campos-parra, A. D., Cruz-rico, G., & Arrieta, O. (n.d.). *Genotipificación en cáncer de pulmón de células no pequeñas*. 1(22), 35–44.
  24. Moiseenko V, Wu J, Hovan A, Saleh Z, Apte A, Deasy JO, et al. Treatment planning constraints to avoid xerostomia in head-and-neck radiotherapy: an independent test of QUANTEC criteria using a prospectively collected dataset. *Int.J.Radiat.Oncol.Biol.Phys.* 2012 Mar 1;82(3)
  25. American Society of Clinical Oncology (ASCO).
  26. Beckles MA, Spiro SG, Colice GL, Rudd RM. Initial evaluation of the patient with lung cancer: symptoms, signs, laboratory tests, and paraneoplastic syndromes. *Chest.* 2003;123(1 suppl):97S–104S.
  27. D'Archivio, M.; Filesi, C.; Di Benedetto, R.; Gargiulio, R.; Giovannini, C.; Masella, R.; *Ann. Ist. Super Sanità* 2007, 43, 348
  28. Pelayo, B. D. C. (2013). RADIOTERAPIA EXTERNA: LO QUE EL MÉDICO GENERAL DEBE SABER. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 24(4), 705–715. [https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(13\)70210-4](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(13)70210-4)
  29. Jacob, S., Featherstone, C., Ch, M. B. B., & Barton, M. (2005). *The Role of Radiotherapy in Cancer Treatment Estimating Optimal Utilization from a Review of Evidence-Based Clinical Guidelines*. (August), 1129–1137. <https://doi.org/10.1002/cncr.21324>

30. Micke O, Seegenschmiedt MH; German Working Group on Radiotherapy in Germany. Consensus guidelines for radiation therapy of benign diseases: a multicenter approach in Germany. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2002 Feb 1;52(2):496-513. doi: 10.1016/s0360-3016(01)01814-4. PMID: 11872298.
31. Organización Mundial de la Salud (OMS), Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC), Latest Global Cáncer Data (Globocan 2018), Noticias y Eventos. Disponible en: [http://www.iarc.fr/en/mediacentre/iarcnews/2018/gco\\_globocan2018.php](http://www.iarc.fr/en/mediacentre/iarcnews/2018/gco_globocan2018.php)  
[http://www.iarc.fr/en/media-centre/iarcnews/2018/gco\\_globocan2018.php](http://www.iarc.fr/en/media-centre/iarcnews/2018/gco_globocan2018.php)
32. Asociación Respirando con Valor. Infografía Panorama del Cáncer de Pulmón en Cifras. Disponible en: <https://www.saludymedicinas.com.mx/assets/img/Infografias/pdf/Infografia-Panorama-Cancer-Pulmon-Mexico-Mundo.pdf>
33. Instituto Nacional Oncología (INCan), Cáncer de Pulmón, Sección Educativa, Texto y Video del Dr. Óscar Arrieta Rodríguez, Coordinador de la Clínica de Cáncer de Pulmón y Tumores de Tórax, así como Jefe del Laboratorio de Oncología Experimental de la misma institución. Disponible en: <http://cancerdepulmon.com.mx/seccion-educativa>
34. Julieta Casella, Rocío Guajardo et al, Universidad de la Aconcagua, Epidemiología sobre Cáncer de Pulmón, abril del 2016. Disponible en: [http://bibliotecadigital.uda.edu.ar/objetos\\_digitales/482/seminario-1-epidemiologia.pdf](http://bibliotecadigital.uda.edu.ar/objetos_digitales/482/seminario-1-epidemiologia.pdf)
35. Alonso, M. M., & Alonso, M. M. (2015). *Artemisa Epidemiología y factores de riesgo del cáncer pulmonar . Revisión de la literatura. III*, 15–17.
36. Samet JM. The epidemiology of lung cancer. *Chest.* 1993;103(suppl4):205
37. Sociedad Española de Oncología Médica 2021 <https://seom.org/info-sobre-el-cancer/cancer-de-pulmon>
38. Rascón-pacheco, R. A., Epid, M. C., González-león, M., Salud, M. C. De, Arroyave-loaiza, M. G., Soc, M. M., & Borja-aburto, V. H. (2019). *Incidencia , mortalidad y costos de la atención por cáncer de pulmón en el Instituto Mexicano del Seguro Social.* 61(3), 257–264.
39. Brigitta Kis, Stefana Avram, Ioana Zinuca Pavel, Adelina Lombrea, Valentina Buda, Cristina Adriana Dehelean, Codruta Soica, Mukerrem Betul Yerer, Florina Bojin, Roxana Folescu and Corina Danciu  
Journal: *Plants*, 2020, Volume 9, Number 11, Page 1464  
DOI: [10.3390/plants9111464](https://doi.org/10.3390/plants9111464)
40. Ascacio-Valdés, Juan Alberto, Aguilera-Carbó, Antonio, Rodríguez-Herrera, Raúl, & Aguilar-González, Cristóbal. (2013). Análisis de ácido elágico en algunas plantas del semidesierto Mexicano. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 44(2), 36-40. Recuperado en 14 de julio de 2021, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-01952013000200006&lng=es&tlng=](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952013000200006&lng=es&tlng=).
41. VATTEM, D.A. & Shetty, Kalidas. (2005). Biological functionality of ellagic acid: A review. *Journal of Food Biochemistry.* 29. 234 - 266. 10.1111/j.1745-4514.2005.00031.x. DOI: [10.1111 / j.1745-4514.2005.00031.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2005.00031.x)

42. Wang, Hui Rong y col. "El ácido elálgico, un compuesto fenólico vegetal, activa la producción de prostaglandinas mediada por ciclooxigenasa". *Medicina experimental y terapéutica* vol. 18,2 (2019): 987-996. doi: 10.3892 / etm.2019.7667
43. Maas, J. L., Galletta, G. J., & Stoner, G. D. (2019). Ellagic Acid, an Anticarcinogen in Fruits, Especially in Strawberries: A Review. *HortScience*, 26(1), 10–14. <https://doi.org/10.21273/hortsci.26.1.10>
44. D.A. VATTEM; K. SHETTY (2005). *BIOLOGICAL FUNCTIONALITY OF ELLAGIC ACID: A REVIEW.* , 29(3), 234–266. doi:10.1111/j.1745-4514.2005.00031.x
45. Vатtem, D. A., & Shetty, K. (2005). BIOLOGICAL FUNCTIONALITY OF ELLAGIC ACID: A REVIEW - VATTEM - 2005 - Journal of Food Biochemistry -. *Journal of Food Biochemistry*, 29(413), 234–266.
46. Inhae Kang, Teresa Buckner, Neil F Shay, Liwei Gu, Soonkyu Chung, Improvements in Metabolic Health with Consumption of Ellagic Acid and Subsequent Conversion into Urolithins: Evidence and Mechanisms, *Advances in Nutrition*, Volume 7, Issue 5, September 2016, Pages 961–972, <https://doi.org/10.3945/an.116.012575>
47. Nobre, Danúbia & Macedo, Willian & Silva, Geraldo & Lopes, Lucas & Jaimes, Edgar. (2019). Aplicación y efecto antioxidante del ácido gálgico sobre la calidad de semillas de trigo - Application and effect antioxidant of gallic acid on the quality of wheat seeds. *Revista de Ciencias Agrarias*. 42. 10.19084/RCA18184.
48. Porras, A., & López, A. (2009). Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, Vol. 3, pp. 121–134. Retrieved from [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf)
49. Aguilar, C.N., Rodríguez-Herrera, R., Gutiérrez-Sánchez, G., Augur, C., Favela-Torres, E., Prado-Barragán, L.A., Ramírez-Coronel, A., Contreras-Esquivel, J.C. 2007.
50. Microbial tannases: advances and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 76, number 1, 47-59.
- 51.- Lekha, P. K., & Lonsane, B. K. (1997). *Production and Application of Tannin Acyl Hydrolase: State of the Art. Advances in Applied Microbiology*, 215–260. doi:10.1016/s0065-2164(08)70463-5
52. Krezanoski, J. Z. (1966). *Tannic Acid: Chemistry, Analysis, and Toxicology. Radiology*, 87(4), 655–657. doi:10.1148/87.4.655
53. Olivas-Aguirre, F. J., Wall-Medrano, A., González-Aguilar, G. A., López-Díaz, J. A., Álvarez-Parrilla, E., De La Rosa, L. A., & Ramos-Jimenez, A. (2015). Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. *Nutricion Hospitalaria*, 31(1), 55–66. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.7699>
54. Palacio-Arango, M. A. ... Peñuela-Mesa, G. A. (2018). Evaluación de la capacidad degradadora de taninos por microorganismos aislados a partir de un efluente de curtiembre del municipio de Copacabana, Antioquia. *Actualidades Biológicas*, 40(108), 17–23. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v40n108a02>

55. Campia, I., Doublier, S., Aldieri, E., Bosia, A., Ghigo, D., & Riganti, C. (2014). *Rho-GTPases and Statins: A Potential Target and a Potential Therapeutic Tool Against Tumors? Recent Advances in Medicinal Chemistry*, 209–245. doi:10.1016/b978-0-12-803961-8.50007-5
56. Robles, H. (2014). *Tannic Acid. Encyclopedia of Toxicology*, 474–475. doi:10.1016/b978-0-12-386454-3.00542-x
57. García Ariza, L. L., Montes Quim, J. H. O., Sierra Acevedo, J. I., & Padilla Sanabria, L. (2017). Biological activity of three curcuminoids from *curcuma longa* L. (Turmeric) grown in quindío, Colombia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 22(1), 1–14.
58. Arteché A, Vanaclocha B, Güenechea JI. *Fitoterapia 3.<sup>a</sup> ed. Vademécum de prescripción. Plantas medicinales*. Barcelona: Masson, 1998.
59. Rius, Carlos & Hernández, Atzin & Yolanda, Gonzales & María, Mena & Nancy, Alonso & Andrea, Gulias & Pamela, Hernández & Evana, Margáin. (2010). OBTENCIÓN DE ÁCIDO SHIKÍMICO A PARTIR DE LIQUIDÁMBAR STYRACIFLUA.
60. Caracterización de ácidos fenólicos y flavonoides presentes en hojas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) Laboratorio de Proteómica y Expresión Génica de la División de Biología Molecular del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la dirección de la Dra. Ana Paulina Barba de la Rosa
61. Peñarrieta, J. M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). PHENOLIC COMPOUNDS IN FOOD.
62. Delaney, G., Jacob, S., Featherstone, C. y Barton, M. (2005). El papel de la radioterapia en el tratamiento del cáncer. *Cancer*, 104 (6), 1129-1137. doi: 10.1002/ cncr.21324
63. 2021 American Cancer Society, Inc. All rights reserved. The American Cancer Society is a qualified 501(c)(3) tax-exempt organization. Tax ID Number: 13-1788491. Cancer.org is provided courtesy of the Leo and Gloria Rosen family
64. Carota, G., Sferrazzo, G., Spampinato, M., Sorrenti, V., Vanella, L. (2019). Antiproliferative Effects of Ellagic Acid on DU145 Cells. *The Open Biochemistry Journal*,.