

# Apoptosis en células de rdbomiosarcoma embrionario humano inducida por extractos lipídicos de *Nicotiana glauca*.

María Belén Faraoni<sup>1</sup>; Florencia A. Musso<sup>1</sup>; Lucía Pronsato<sup>2</sup>; Lorena Milanessi<sup>2</sup>; Andrea Vasconsuelo<sup>2</sup>. [bfaraoni@criba.edu.ar](mailto:bfaraoni@criba.edu.ar)

<sup>1</sup>Instituto de Química del Sur (INQUISUR), Universidad Nacional del Sur – CONICET, Bahía Blanca, Argentina;

<sup>2</sup>Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur (INBIOSUR), Universidad Nacional del Sur – CONICET, Bahía Blanca, Argentina.

Palabras claves: *Nicotiana glauca*; Rdbomiosarcoma; Ácido palmítico; Escopoletina.

**Sesión temática:** Actividades biológicas de productos naturales: *in vitro* e *in vivo*.

## INTRODUCCIÓN

Rdbomiosarcoma (RMS) es un tumor maligno de tejidos blandos que se origina en células miogénicas del músculo esquelético normal, por una disrupción en la regulación del crecimiento y diferenciación de las mismas<sup>1,2</sup>. Este tipo de cáncer tiene un pronóstico sombrío, enfatizando la necesidad de nuevos tratamientos<sup>3</sup>. Actualmente han ganado relevancia el uso de compuestos naturales, los cuales son menos agresivos que la terapia clásica. Diversas plantas presentan efectos antitumorales por su capacidad de inducir apoptosis<sup>4,5</sup>. Se ha evidenciado que extractos de *N. glauca*, inducen apoptosis en la línea celular de mioblastos murinos C2C12<sup>6</sup>. Dado que se trata de células miogénicas, se hipotetiza que los extractos de *N. glauca* tendrían un efecto antiproliferativo/apoptótico en RMS. Se evaluarán los efectos de extractos de *N. glauca* sobre células de RMS embrionario humano en relación a la apoptosis y se elucidarán los fitoquímicos implicados.

## METODOLOGIA

El extracto etanólico se obtuvo por maceración de hojas secas de *N. glauca* en etanol. Éste, se particionó en tres sub-extractos: hexano, cloroformo y acetato de etilo. De los dos primeros se aislaron ácido palmítico y escopoletina respectivamente, a través de una cromatografía en columna empleando sílica flash (70-230 Mesh), y una mezcla de hexano: AcOEt como fase móvil. Las estructuras fueron confirmadas por espectroscopía de RMN, CG-MS y punto de fusión. Se estudió la viabilidad de células de RMS embrionario humano, células RD (CCL-136™) American Type Culture Collection (ATCC®), por tinción con Azul de Metileno y microscopía. Se analizó el estado del núcleo y mitocondrias mediante la tinción con DAPI y Mitotracker respectivamente, para evaluar apoptosis (condensación de cromatina, y agrupación en la zona nuclear de mitocondrias).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuando las células tumorales se trataron con el extracto etanólico se observó una clara disminución de la viabilidad celular. Se prosiguió a su

fraccionamiento en tres sub-extractos: hexánico, clorofórmico y acetoetílico, con los cuales se repitieron los ensayos de viabilidad. En la Fig. 1 se muestra el orden observado.

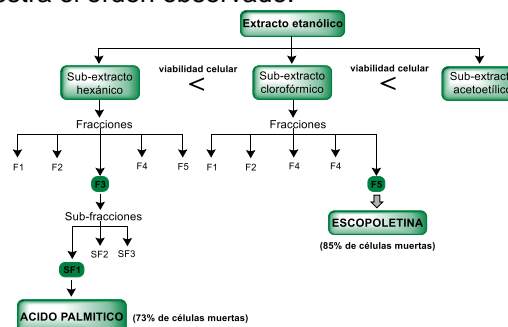


Figura 1. Ensayo biodirigido del extracto etanólico de *N. glauca*.

Los compuestos responsables de la muerte celular observada en los sub-extractos hexánico y clorofórmico fueron ácido palmítico (A) y escopoletina (B), respectivamente (Fig. 2).

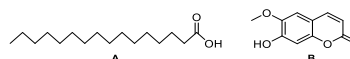


Figura 2. Estructuras correspondientes a ácido palmítico (A) y escopoletina (B).

Al tratar las células con cada uno de los compuestos aislados, la escopoletina resultó un agente apoptótico más poderoso que el ácido palmítico (85% vs. 73% de células muertas).

## CONCLUSIONES

Estos estudios aportan conocimiento al desarrollo de terapias con productos naturales para el tratamiento de trastornos hiperproliferativos como RMS.

Agradecimientos: UNS, CIC (MBF) y CONICET.

<sup>1</sup>Young, J. L.; Ries, L.; Silverberg, E., et al. *Cancer*, **1986**, 58 (2), 598.

<sup>2</sup>Hettmer, S.; Wagers A. J., *Nat. Med.*, **2010**, 16, 171.

<sup>3</sup>Malempati, S.; Hawkins, D. S., *Pediatr. Blood Cancer*, **2012**, 59, 5.

<sup>4</sup>Mukherjee, A. K.; Basu, S.; Sarkar, N., et al. *Curr. Med. Chem.*, **2001**, 8(12), 1467.

<sup>5</sup>Ouyang, L.; Luo, Y.; Tian M., et al. *Cell. Prolif.*, **2014**, 47(6), 506.

<sup>6</sup>Musso, F.; Lincor, D.; Vasconsuelo, A., et al. *Biol. Pharm. Bul.*, en prensa.