

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



EFFECTO DE LAURINTEROL AISLADO DE *Laurencia johnstonii* SOBRE LA PROGRESIÓN DEL CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO (MDA-MB-231).

POR:

CAROLINA SERRANO SALAS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN MANEJO Y APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE RECURSOS BIÓTICOS.

2026

EFFECTO DE LAURINTEROL AISLADO DE *Laurencia johnstonii* SOBRE LA
PROGRESIÓN DEL CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO (MDA-MB-231).

Comité de Tesis



Dr. José Ezequiel Viveros Valdez

Director de Tesis



Dra. Vianey González Villasana.

Secretario



Dr. Ramón Gerardo Rodríguez Garza.

Vocal



Dra. Catalina Leos Rivas

Vocal



Dra. Mayra Zulema Treviño Garza

Vocal



Dra. Katiushka Arévalo Nino

Subdirectora de Posgrado

EFFECTO DE LAURINTEROL AISLADO DE *Laurencia johnstonii* SOBRE LA
PROGRESIÓN DEL CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO (MDA-MB-231).

Dirección de Tesis



Dr. José Ezequiel Viveros Valdez

Director de Tesis



Dra. Sara García Davis

Director Externo

DERECHOS RESERVADOS©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Secretaría de Ciencias, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el apoyo otorgado a través de la beca de maestría, la cual hizo posible la realización de este proyecto y contribuyó de manera significativa a mi formación académica y profesional.

Expreso mi sincero agradecimiento a mis profesores, Dr. Ezequiel, Dra. Vianey y Dr. Ramón, por su valiosa orientación, sus enseñanzas y su apoyo constante durante el desarrollo de esta tesis. Su guía y dedicación fueron fundamentales para culminar este trabajo.

A mis padres, gracias por su amor incondicional, por creer siempre en mí y por acompañarme en cada paso de este camino.

A mi hermana, gracias por tus consejos, por tu cariño y por estar siempre a mi lado brindándome palabras de aliento y motivación.

DEDICATORIA

A mis amadas hijas, Mandy y Nolly, por ser mi inspiración constante y mi fortaleza en cada etapa de este camino.

A ti, Nolly, que me acompañaste durante parte de esta maestría, gracias por haber sido el regalo más hermoso que la vida me dio. Compartir este trayecto contigo fue una bendición que siempre guardaré en mi corazón. Aunque ya no estés físicamente, sigues presente en mis pensamientos, en mis recuerdos y en cada uno de mis logros. Tu luz permanece en mí, guiándome y dándome fuerza para continuar.

Y a ti, Mandy, gracias por estar siempre a mi lado, por tu amor incondicional, por acompañarme en todo momento y llenarme de alegría incluso en los días más difíciles. Tu cariño me impulsa, me inspira y me recuerda cada día por qué vale la pena esforzarse.

Este trabajo es para ustedes, mis mayores motivos de vida, con todo mi amor y gratitud eterna.

ÍNDICE

1.	Introducción	14
2.	Antecedentes.....	15
2.1	Cáncer de mama: generalidades, tipos y estadísticas	15
2.2	Cáncer de mama triple negativo	17
2.3	Mecanismos celulares clave en la progresión tumoral: Proliferación, migración, invasión y angiogénesis.....	19
2.4	Productos Naturales Marinos	20
2.5	Productos Naturales Marinos vs Cáncer	21
2.6	Algas marinas y sus compuestos	23
2.7	Género <i>Laurencia</i> : características, distribución y compuestos activos	24
2.8	Actividad biocida de los sesquiterpenos	25
2.9	Compuestos anticancerígenos de <i>Laurencia</i>	27
3.	Justificación	29
4.	Hipótesis	30
5.	Objetivo general	31
6.	Objetivos específicos	31
7.	Metodología	32
7.1	Obtención de Laurinterol	32
7.2	Preparación celular	33
7.3	Ensayo de viabilidad	34
7.4	Ensayo de proliferación	34
7.5	Ensayo de migración	35
7.6	Ensayo invasión	36
7.7	Docking <i>in silico</i>	38
8.	Diseño experimental	40
9.	Resultados	41
9.1	Objetivo 1-. Identificación y caracterización de Laurinterol	41
9.2	Objetivo 2-. Viabilidad y proliferación	43
9.3	Objetivo 3-. Migración e invasión	46

9.4 Objetivo 4-. Docking <i>In Silico</i>	49
10. Discusión	52
11. Conclusión	56
12. Bibliografía	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tasa de supervivencia del CMTN	18
Tabla 2. Metabolitos aprobados como compuestos anticancerígenos y derivados de compuestos marinos	22
Tabla 3. Resultados de las interacciones	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Casos de cáncer de mama por edad	16
Figura 2. Casos de cáncer de mama por etnia	16
Figura 3. Taxonomía y distribución de <i>Laurencia johnstonii</i> en México	25
Figura 4. Metodología para la obtención de Laurinterol	32
Figura 5. Metodología para cultivo celular	33
Figura 6. Metodología del ensayo de viabilidad celular	34
Figura 7. Metodología del ensayo de proliferación	35
Figura 8. Metodología del ensayo de migración	36
Figura 9. Metodología del ensayo de invasión	38
Figura 10. Metodología para la realización del Docking	39
Figura 11. Fraccionamiento del extracto de <i>Laurencia johnstonii</i>	41
Figura 12. Sesquiterpeno aislado de <i>Laurencia johnstonii</i>	41
Figura 13. Espectro de RMN de ¹ H de Laurinterol	42
Figura 14. Regresión no lineal del ensayo WST1 de MDA-MB-231	43
Figura 15. Ensayo de viabilidad celular en MDA-MB-231 frente a Laurinterol	43
Figura 16. Regresión no lineal del ensayo WST1 de HUVEC	44
Figura 17. Ensayo de viabilidad celular en HUVEC frente a Laurinterol	44
Figura 18. Efecto de Laurinterol sobre proliferación en MDA-MB-231	45
Figura 19. Número de colonias relativas	45
Figura 20. Efecto de Laurinterol sobre la migración en células MDA-MB-231	46
Figura 21. Cuantificación del efecto de Laurinterol sobre la migración en MDA-MB-231	47
Figura 22. Ensayo de invasión con transwell	48
Figura 23. El Laurinterol inhibe de manera significativa la capacidad invasiva de las células MDA-MB-231	49
Figura 24. Acoplamiento molecular del Laurinterol	50

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

CM	Cáncer de mama
CMTN	Cáncer de mama triple negativo
PNMs	Productos naturales marinos
CI ₅₀	Concentración inhibitoria 50
CI ₂₀	Concentración inhibitoria 20
NT	No tratadas
MMP	Metaloproteinasas de matriz
µg/mL	Microgramos/mililitros
CCD	Cromatografía de capa delgada
RMN	Resonancia magnética nuclear
DMEM	Medio Eagle modificado de Dulbecco
DMSO	Dimetilsulfóxido
SFB	Suero fetal bovino

RESUMEN

El cáncer de mama triple negativo (CMTN) constituye una de las variantes más agresivas de cáncer mamario, caracterizada por alta heterogeneidad biológica, ausencia de blancos terapéuticos específicos y elevada capacidad metastásica. En este contexto, los productos naturales representan una fuente relevante de compuestos bioactivos con potencial terapéutico. El presente estudio evaluó los efectos biológicos del sesquiterpeno Laurinterol, obtenido de algas del género *Laurencia*, sobre la línea celular MDA-MB-231, con énfasis en procesos asociados a la progresión metastásica.

La evaluación de viabilidad celular determinó un valor de CI_{50} de $15.87 \pm 0.15 \mu\text{g/mL}$, indicando citotoxicidad moderada. Sin embargo, el ensayo de formación de colonias no mostró alteraciones significativas, lo que sugiere que el Laurinterol no afecta la capacidad proliferativa a largo plazo en esta línea celular. En contraste, los ensayos funcionales evidenciaron un efecto relevante sobre la motilidad e invasión celular. En el ensayo de cicatrización de heridas, la IC_{20} representó la concentración máxima efectiva para inhibir la migración. Asimismo, en el ensayo de invasión tipo Transwell recubierto, se observó una reducción de 22.7 % (CI_{20}) y 38.7 % (CI_{50}) en el número de células invasoras en comparación con el control.

El acoplamiento molecular mostró afinidad del Laurinterol hacia Topoisomerasa $II\alpha$ ($-5.951 \pm 0.369 \text{ kcal/mol}$) y p53-MDM2 ($-5.614 \pm 0.327 \text{ kcal/mol}$), con interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno en residuos clave, lo cual sugiere una posible participación en rutas involucradas en la metástasis.

En conjunto, los resultados indican que el Laurinterol no ejerce un efecto antiproliferativo significativo, pero modula procesos de migración e invasión celular, proponiéndole como un candidato potencial para el desarrollo de estrategias antimetastásicas en CMTN.

ABSTRACT

Triple-negative breast cancer (TNBC) is one of the most aggressive subtypes of breast cancer, characterized by high biological heterogeneity, lack of specific therapeutic targets, and elevated metastatic potential. In this context, natural products represent a relevant source of bioactive compounds with therapeutic potential. This study evaluated the biological effects of the sesquiterpene Laurinterol, obtained from algae of the genus *Laurencia*, on the MDA-MB-231 cell line, with emphasis on processes associated with metastatic progression.

Cell viability assessment revealed an IC_{50} value of $15.87 \pm 0.15 \mu\text{g/mL}$, indicating moderate cytotoxicity. However, the colony formation assay showed no significant alterations, suggesting that Laurinterol does not affect long-term proliferative capacity in this cell line. In contrast, functional assays demonstrated a relevant effect on cellular motility and invasion. In the wound-healing assay, the IC_{20} represented the maximum effective concentration for inhibiting migration. Likewise, in the Matrigel-coated Transwell invasion assay, a reduction of 22.7 % (IC_{20}) and 38.7 % (IC_{50}) in the number of invading cells was observed compared to the control.

Molecular docking analysis showed affinity of Laurinterol for Topoisomerase II α (-5.951 ± 0.369 kcal/mol) and p53-MDM2 (-5.614 ± 0.327 kcal/mol), with hydrophobic interactions and hydrogen bonds at key residues, suggesting potential modulation of pathways associated with metastasis.

Taken together, these results indicate that Laurinterol does not exert a significant antiproliferative effect, yet modulates cellular migration and invasion processes, supporting its potential as a candidate for the development of antimetastatic strategies in TNBC.

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer es una enfermedad que se presenta cuando las células se multiplican sin control y se diseminan a los tejidos que las rodean. Este proceso se denomina metástasis y es la principal causa de muerte por cáncer (Kim 2021). En 2021, en México se registraron 1,122,249 defunciones, de las cuales 8 % fue por tumores malignos, siendo el cáncer de mamá (CM) el de mayor mortandad en la población femenina mexicana (INEGI 2021).

Existen diferentes clasificaciones de CM, destacando por su complejidad y mortandad los clasificados como cáncer de mama triple negativo (CMTN). Esta clase de cáncer es considerada altamente agresiva debido a su rápido desarrollo, lo que lo hace más propenso a las recurrencias y metástasis. Como resultado, la tasa de supervivencia es una de las más bajas en comparación con los otros tipos de cáncer de mama (Zhu *et al.* 2023). Para abordar esta problemática se ha propuesto el estudio de nuevas y/o novedosas estrategias para su tratamiento, siendo la búsqueda sistemática de nuevas moléculas una constante en el área de química biomédica. Para este fin, se ha recurrido al cribado (screening) de moléculas de origen natural que pudieran considerarse como nuevas cabezas de serie para el desarrollo de fármacos (Naeem *et al.* 2022).

Últimamente, los productos naturales marinos se han revalorizado dada la compleja diversidad estructural que presentan (Kanoujia *et al.* 2023), destacando el estudio de metabolitos del grupo de los terpenos (o terpenoides). Entre los organismos marinos, las algas del género *Laurencia* son consideradas una de las fuentes más prolíficas de metabolitos secundarios con actividad biológica relevante. En este sentido, los ciclolauranos, terpenos de 15 carbonos encontrados únicamente en las algas del género *Laurencia*, han mostrado un potente efecto biocida contra bacterias, micobacterias, hongos, parásitos y células (García-Davis *et al.* 2020), sin embargo su limitada selectividad ha limitado sus aplicaciones terapéuticas.

Partiendo de esta premisa, en este proyecto nos proponemos evaluar el efecto del ciclolaurano Laurinterol, compuesto que pudiera ser crucial sobre la inhibición y/o modulación de algunas vías claves en el desarrollo de metástasis, como lo son la proliferación, invasión y migración de células de cáncer de mama triple negativo.

2. ANTECEDENTES

2.1 Cáncer de mama: generalidades, tipos y estadísticas

El cáncer de mama es una enfermedad en la cual las células se multiplican sin control, y se clasifica según el tipo de célula de la mama se vuelve cancerosa. Los más comunes son el carcinoma ductal infiltrante, en el cual las células cancerosas se originan en los conductos y posteriormente salen de ellos y se multiplican en otros tejidos mamarios, y el carcinoma lobulillar infiltrante, que se origina en los lobulillos y posteriormente se disemina a los tejidos mamarios cercanos, ambos pueden hacer metástasis (CDC 2023).

También destaca el cáncer de mama medular, que se caracteriza por células tumorales aberrantes y anaplásicas rodeadas por un infiltrado linfocítico notorio con poco estroma fibroso con componente epitelial indiferenciado. Asimismo, el cáncer de mama mucinoso que es aquel tumor que presenta una gran cantidad de mucina extracelular (visible macroscópicamente), que rodea y envuelve células epiteliales. Por otro lado, el cáncer de mama inflamatorio se presenta típicamente con una mama eritematosa (piel enrojecida) que crece rápidamente, a menudo sin una masa mamaria discernible (Gordillo *et al.* 2010; Cuesta *et al.* 2001; Molckovsky *et al.* 2009).

Particularmente, el cáncer de mama es un cáncer que presenta diferentes formas y manifestaciones entre las mujeres de todo el mundo. Basado en datos moleculares e histológicos, el cáncer de mama se puede clasificar en tres grupos: aquellos que expresan receptores hormonales, como el receptor para estrógeno (ER+) o el receptor de progesterona (PR+); aquellos que expresen el receptor epidérmico humano 2 (HER2+); y el cáncer de mama triple negativo (ER-, PR-, HER2-). Las células madre cancerosas son poblaciones pequeñas de células tumorales que tienen comportamientos como la invasión, la metástasis, la recurrencia y la resistencia (Barzaman *et al.* 2020).

Las siguientes gráficas muestran los nuevos casos de cáncer de mama por grupos como edad, etnia, y sexo, entre 2016 y 2020.

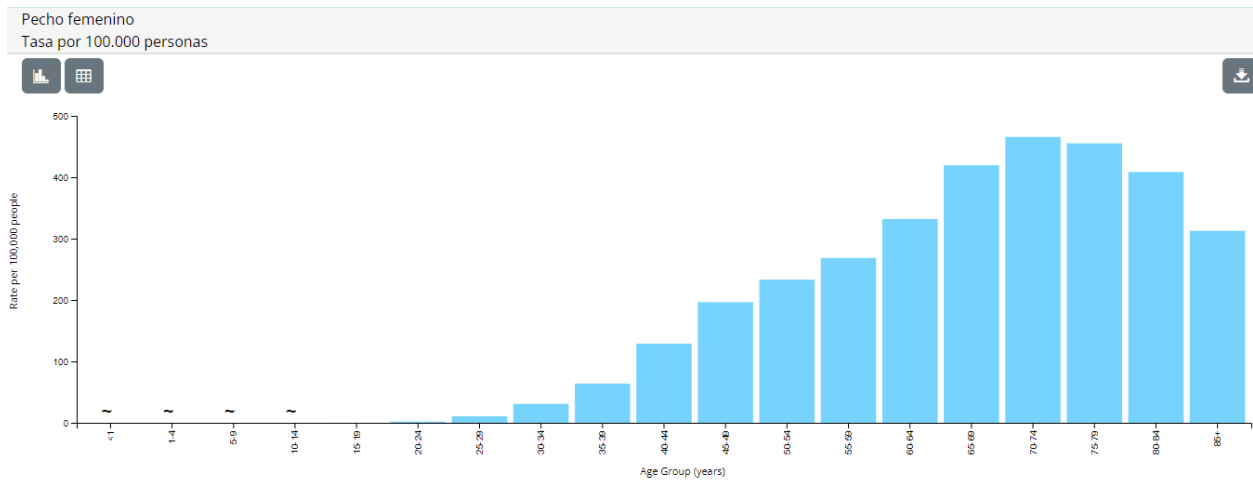


Figura 1. Casos de cáncer de mama por edad. Nuevos casos de cáncer de mama por grupos de edad en todas las razas en hombres y mujeres del 2016 al 2020 (CDC 2023).

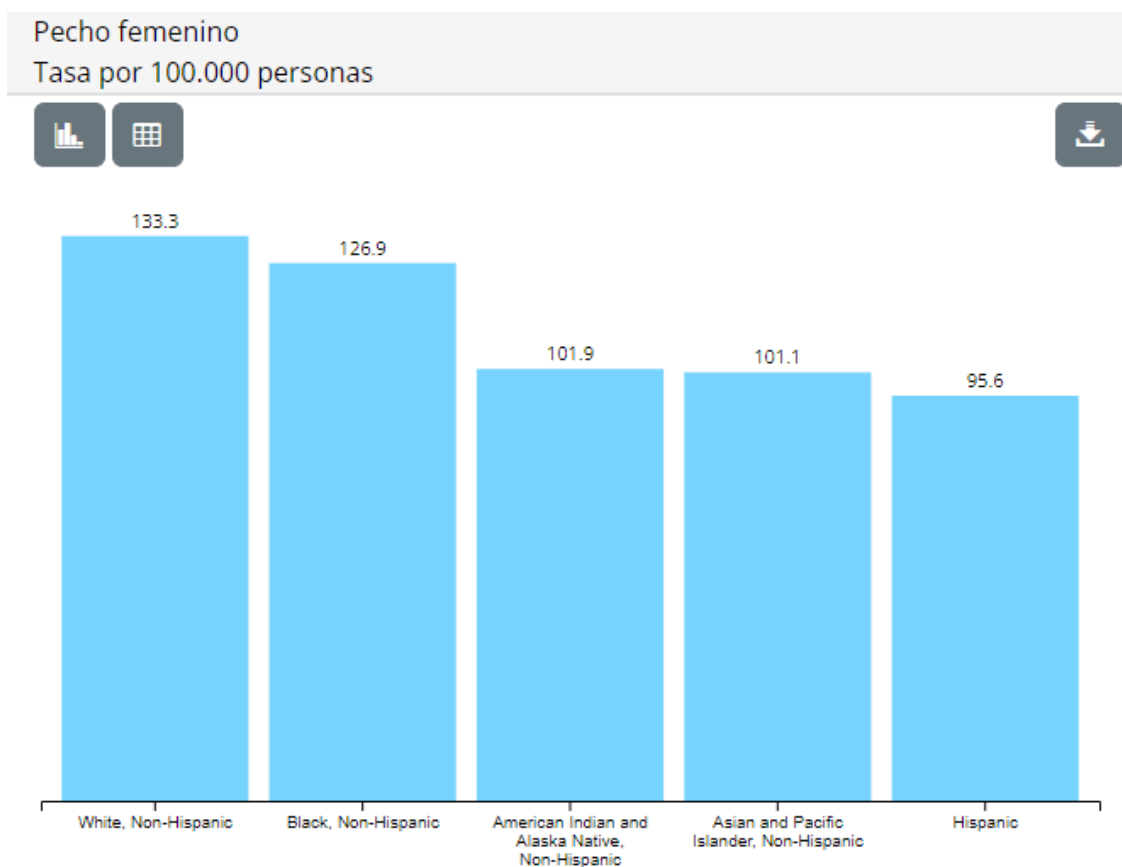


Figura 2. Casos de cáncer de mama por etnia. Nuevos casos de cáncer de mama por raza en hombres y mujeres del 2016 al 2020 (CDC 2023).

2.2 Cáncer de mama triple negativo

El cáncer de mama triple negativo (CMTN) es una neoplasia maligna caracterizada por la ausencia de expresión de receptores de progesterona, estrógeno y HER2. El CMTN tiene una alta incidencia en personas afroamericanas y latinas y una menor incidencia en personas caucásicas, constituyendo un problema de salud pública debido a su morbimortalidad.

Zaharia y Gómez (2013) describen que el CMTN representa el 21 % de todos los cánceres de mama en la población afroamericana y el 15 % en poblaciones de origen anglosajón. Asimismo, se ha descrito una alta incidencia de CMTN en poblaciones latinas, con una frecuencia de 21.3 % en Perú, 24.6 % en Venezuela, 23.1 % en México, y 27 % en Brasil.

Debido a la ausencia de dianas terapéuticas específicas, la quimioterapia juega un papel fundamental en el tratamiento del CMTN. Por ello, se están investigando combinaciones de quimioterapia con nuevos fármacos para mejorar la eficacia en el tratamiento de este tipo de cáncer (Zaharia y Gómez 2013). Sin embargo, a pesar de la alta tasa de respuesta a la quimioterapia, estas respuestas no suelen ser prolongadas, ya que se desarrollan mecanismos de resistencia de manera precoz. Esto convierte el diagnóstico, manejo y seguimiento del CMTN en un reto para los oncólogos clínicos.

Información recopilada de la Sociedad Americana de Cáncer (American Cancer Society 2022) indica que, si el tumor del CMTN es lo suficientemente pequeño se realiza cirugía para extirparlo (mastectomía). Si el tumor es grande, después de la cirugía se aplica radioterapia además de la quimioterapia adyuvante para reducir las posibilidades de recurrencia del cáncer. El medicamento olaparib podría administrarse durante un año después de la quimioterapia para aumentar el porcentaje de supervivencia. A menudo, la quimioterapia se administra antes de la cirugía, sola o en conjunto con pembrolizumab para reducir el tamaño del tumor y/o ganglios linfáticos afectados por el cáncer. Los medicamentos más comunes de quimioterapia: antraciclinas, taxanos, capecitabina, gemcitabina, eribulina, entre otros, los cuales pueden utilizarse solos o en combinación con otros fármacos. En el caso de tener una mutación en el gen BRCA y que el cáncer ya no responda a estos medicamentos, se puede considerar quimioterapia con cisplatino.

La literatura dice que el CMTN representa aproximadamente 18 % de todos los tipos de cáncer mamario. Desde el punto de vista clínico el factor más importante para determinar la supervivencia es la presencia de metástasis en los ganglios regionales. El 32.25 % de las mujeres con CMTN presentan metástasis al momento del diagnóstico (Quirós y Espinoza 2017).

Los porcentajes presentados en la siguiente tabla están basados en mujeres diagnosticadas con CMTN entre 2012 y 2018.

Tabla 1- Tasa de supervivencia del CMTN (American Cancer Society 2023).

Etapas SEER	Tasa relativa de supervivencia a 5 años %
Localizado: el cáncer no se ha propagado fuera del seno.	91
Regional: cuando se propaga fuera del seno a los ganglios linfáticos cercanos.	66
Distante: cuando se propaga hacia otros órganos.	12
Todas las etapas combinadas.	77

La etapa distante es una etapa en la cual las células de cáncer están realizando metástasis, esto quiere decir que las células están invadiendo otras partes del cuerpo del paciente. En muchos tipos de cáncer, también se llama cáncer en estadio IV (estadio 4).

Las células cancerosas se diseminan por el cuerpo en varios pasos:

1. Aparecen dentro del tejido sano cercano.

2. Atraviesan las paredes de los ganglios linfáticos y vasos sanguíneos cercanos.
3. Viajan por el sistema linfático y el torrente sanguíneo a otras diferentes partes del cuerpo.
4. Paran en los vasos sanguíneos pequeños en sitios alejados, invaden las paredes de los vasos sanguíneos y entran en el tejido sano que los rodea.
5. Crecen hasta crear un tumor muy pequeño.
6. Forman nuevos vasos sanguíneos, que permiten que el tumor metastásico obtenga sangre y crezca.

La metástasis es la principal causa de letalidad del cáncer. Implica una variedad de mecanismos celulares como invadir el estroma, escapar de la vigilancia inmune, evadir y modular el microambiente tisular y desarrollar resistencia a la intervención terapéutica (Suhail *et al.* 2019).

2.3 Mecanismos celulares clave en la progresión tumoral: Proliferación, migración, invasión y angiogénesis.

El rasgo principal de las células cancerosas es una proliferación crónica, las células sanas controlan cuidadosamente la producción de señales que promuevan el crecimiento e indican la entrada y progresión de la división celular para así tener una homeostasis del número celular. Por otro lado, las células cancerosas no tienen la capacidad de controlar estas señales de crecimiento, pueden producir ligandos de factores de crecimiento por sí solas estimulando su proliferación, también pueden enviar señales para estimular a las células sanas para suministrarse de factores de crecimiento (Hanahan y Weinberg 2011).

La migración de células cancerosas tiene un papel crucial en la cascada metastásica, ya que logra la dispersión de corto alcance de células dentro del tumor, lo que favorece su crecimiento acelerado y su supervivencia. Este proceso de migración está involucrado en el desarrollo embrionario, respuesta inmune, inflamación y metástasis. Para que el cáncer se disemine, las células cancerosas deben migrar e invadir la matriz extracelular y pasar a la circulación sanguínea, pudiendo así llegar a otros órganos (Justus *et al.* 2014).

Las células tumorales que tienen la capacidad de invadir, cambian su fenotipo para parecerse a las células mesenquimáticas, este proceso se llama transición epitelio-mesenquimática (TEM). Las células que dejan de tener uniones adherentes cambian su morfología epitelial para parecerse a los fibroblastos y así poder tener enzimas degradadoras de la membrana extracelular y aumentar su motilidad. También los fibroblastos cercanos cambian y generan un microambiente a favor del crecimiento tumoral (Castaño *et al.* 2011).

Las células endoteliales activadas por VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular) producen las metaloproteínas de matriz (MMP), estas proteínas están encargadas de degradar la matriz extracelular y al degradarse permite la migración e invasión de células endoteliales, pronto evolucionan a redes de vasos sanguíneos con la ayuda de un factor de adhesión dando un aporte significativo de sangre al tumor favoreciendo su crecimiento, a esta creación de nuevos vasos sanguíneos se le llama angiogénesis (Nishida *et al.* 2006).

2.4 Productos Naturales Marinos

Cerca del 87 % de la biosfera es ocupada por el océano, lo que representa una gran reserva de biodiversidad. Esta gran diversidad de organismos marinos, se expresan en una amplia diversidad química, ya que al igual que los organismos terrestres, tanto macroorganismos como microorganismos marinos, producen un sinnúmero de compuestos químicos como mecanismo de adaptación al hábitat en el que se encuentran. Además, se sabe que debido a las diversas condiciones ambientales del mar como su temperatura, presión, pH y concentración de sal, hace que estos metabolitos secundarios presenten nuevas estructuras químicas y novedosos mecanismos de acción (Zhou *et al.* 2021).

Hasta la fecha, se han descrito más de 30,000 productos naturales marinos (PNMs), muchos de ellos con actividades biológicas relevantes, por ejemplo, de los 15,000 metabolitos descritos de 1985 a 2012, 4196 presentaron bioactividad (Hu *et al.* 2015).

Para 2018, se reportaron más de 1,500 nuevos PNMs, que deja en claro el resurgimiento del interés por la comunicación científica en estos últimos años. Este incremento representa un aumento del 4 % en comparación con el 2017 (Carroll *et al.* 2020).

A pesar de las relevantes peculiaridades de los PNMs, uno de los problemas que se han enfrentado al momento de la recolección de muestras es la dificultad para llegar a las profundidades del mar y el conseguir el suficiente material biológico para llevar a cabo los estudios químicos y biológicos correspondientes. Por otro lado, el cultivo de microorganismos marinos resulta un gran reto debido a las condiciones ambientales que se requieren, y si se logra cultivar, en la mayor parte de los casos la cantidad de metabolito es muy poca, puede incluso no producir los compuestos de interés. Por consiguiente, esto complica el aislamiento y elucidación estructural de los metabolitos, así como la evaluación de las actividades biológicas y su formulación. Otro factor determinante es la complejidad estructural de estos compuestos, complicando su síntesis en el laboratorio.

2.5 Productos Naturales Marinos vs Cáncer

Los organismos marinos han evolucionado a sus homólogos terrestres debido a la adaptación a condiciones ambientales complejas, produciendo así una amplia diversidad de sustancias químicas complejas. Hasta el 2020 se habían aislado más de 36 mil compuestos de microorganismos y macroorganismos del mar, como lo son: hongos, bacterias, microalgas, macroalgas, esponjas, corales, moluscos y tunicados, fungiendo como fuente de inspiración para el desarrollo de nuevos productos con efectos terapéuticos. Del 2010 al 2021 se han desarrollado 11 medicamentos para el tratamiento de diferentes tipos de cáncer, en la tabla 2 se enlistan algunos de estos compuestos marinos (Marine Pharmacology 2025).

Durante los últimos años, se han estudiado diversos extractos y compuestos puros con actividad anticancerígena. Los principales factores que han motivado esta investigación son: la inminente necesidad de nuevos compuestos contra el cáncer que sean más eficientes, específicos y que tengan menos efectos adversos.

Tabla 2-. Medicamentos aprobados como compuestos anticancerígenos y derivados de compuestos marinos (Marine Pharmacology 2025).

Prescripción	Año de aprobación de FDA	Organismo marino	Clase química	Enfermedad
Vascepa	2012	Pez	Omega-3	Hipertrigliceridemia
Epanova	2014	Pez	Omega-3	Hipertrigliceridemia
Halaven	2010	Esponja	Cetona macrocíclica	Cáncer de mama metastásico
Adcetris	2011	Molusco / cianobacteria	ADC	Cáncer: Linfoma maligno sistémico anaplásico de células T grandes; enfermedad de Hodgkin.
Yondelis	2015	Tunicado	Alcaloide	Cáncer: Sarcoma de tejidos blandos y cáncer de ovario.
Aplidin	2018	Tunicado	Depsipéptido	Cáncer: Mieloma múltiple, leucemia, linfoma.
Polivy	2019	Molusco / cianobacteria	ADC	Cáncer: Linfoma no Hodgkin, leucemia linfocítica crónica, linfoma, linfoma de células B, linfoma folicular.
PADCEV	2019	Molusco / cianobacteria	ADC	Cáncer urotelial metastásico.
Zapzelca	2020	Tunicado	Alcaloide	Cáncer: Cáncer de pulmón de células pequeñas metastásico.
Aidixi	2021	Molusco / cianobacteria	ADC	Cáncer: Carcinoma urotelial, cáncer avanzado, cáncer gástrico, carcinoma gástrico con sobreexpresión de HER2, cáncer de mama avanzado, tumores sólidos.
TIVDAK	2021	Molusco / cianobacteria	ADC	Cáncer cervical metastásico.

Entre los metabolitos secundarios producidos por macroalgas, se han estudiado las propiedades citotóxicas de tres bromoditerpenos aislados del alga roja *Sphaerococcus coronopifolius*

denominados 12 R -hidroxibromosfaerol, 12 S -hidroxibromosfaerol y bromosfaerol. Estos compuestos mostraron una alta producción de peróxido de hidrógeno e indujeron la apoptosis en células de cáncer de mama (MCF-7) (Alves y Diederich 2023).

Uno de los principales desafíos de la bioprospección y el uso de farmacología de PNM es el bajo rendimiento de los extractos, comprometiendo a la cadena de suministros para realizar los ensayos pertinentes, como lo son los preclínicos, clínicos y por consiguiente el desarrollar un nuevo fármaco. Para esto, se están buscando estrategias como lo son la ingeniería genética, la acuicultura, la modificación química, y la síntesis (Alves y Diederich 2021).

2.6 Algas marinas y sus compuestos

Las algas marinas están constituidas por aproximadamente entre 25 y 30 mil especies con diversos tamaños y colores, clasificadas en diferentes grupos: algas pardas (Phaeophyceae), algas rojas (Rhodophyceae) y algas verdes (Chlorophyceae) (Charoensiddhi *et al.* 2020).

Las algas marinas están distribuidas por todo el océano y son una de las más importantes y atractivas fuentes de metabolitos secundarios, muchos de ellos activos. Estos compuestos comprenden una amplia variedad de clases químicas como lo son los compuestos fenólicos, polisacáridos y derivados, lípidos, esteroides, pigmentos, terpenoides, lectinas, alcaloides, incluidos compuestos halogenados, entre otros (Vicente *et al.* 2022).

Entre los productos naturales, destacan los terpenos, compuestos químicos que contienen una o más unidades de isopreno (C₅). Los monoterpenos halogenados son metabolitos secundarios que normalmente contienen cloro y bromo, y algunas veces yodo. Estos metabolitos son sintetizados por las algas marinas y secretados fuera de la célula como mecanismo de defensa contra las agresiones ambientales. La función ecológica de estos metabolitos, resulta de miles de años de adaptación, se expresa también en importantes aplicaciones terapéuticas. Por ejemplo, monoterpenos aislados de las algas *Plocamium suhrii* y *Plocamium cornutum* demostraron una importante actividad antiproliferativa en comparación con el anticancerígeno de referencia cisplatino (Gutiérrez-Rodríguez 2018).

También, se ha demostrado que los compuestos derivados de las algas marinas tienen propiedades antiproliferativas mediante la regulación negativa de la vía PI3K/Akt. Por ejemplo el sesquiterpeno de guaiane (guai-2-en-10-ol) aislado del alga verde *Ulva fasciata* disminuyó la viabilidad de una línea celular de cáncer de mama MDA MB-231 probablemente por la interacción entre el sitio quinasa de EGFR y la consiguiente apoptosis (Gutiérrez-Rodríguez 2018).

2.7 Género *Laurencia*: características, distribución, compuestos activos

Lamouroux, en 1813, erigió al género *Laurencia*, y desde entonces, su historia taxonómica ha sido muy complicada, debido a su parecido con otras algas. En comparación con el género *Laurencia* descrito por Lamouroux en 1813, Garbary y Harper, en 1998, describen la existencia de más de 140 especies de *Laurencia* y su complejo (*Laurencia*, *Osmundea*, *Chondrophyucus*, *Palisada* y *Yuzurua*), que abarca casi las 200 especies que se distribuyen desde aguas tropicales a templadas, desde la zona intermareal - submareal hasta unos 65 metros de profundidad (Martín-Lescane *et al.* 2010).

Las algas que prosperan en zonas eufóticas (penetra la luz) son los primeros organismos marinos que se investigaron como fuente de alimento, suplementos, fertilizantes y metabolitos bioactivos, el género *Laurencia* es unánimemente aceptado como una maravillosa fuente de metabolitos secundarios, esto puede ser debido a factores ambientales, ya que su distribución es cosmopolita (Harizani 2016).

Las algas *Laurencia* están constituidas por cuatro células pericentrales por segmento axial vegetativo y por conexiones de fosas secundarias orientadas longitudinalmente entre células corticales superficiales contiguas (Martín-Lescane *et al.* 2010).

Las especies del género *Laurencia* producen diversos metabolitos secundarios halogenados y no halogenados, siendo la clase química de los terpenos la mayormente descrita. En la Figura 1

Zhanjiang. De *Laurencia tristicha* aislaron 14 sesquiterpenos, de los cuales siete eran nuevos compuestos : laur-11-en-2,10-diol, laur-11-en-10-ol, laur-11-en-1,10-diol, 4-bromo-1,10-epoxilaur-11(15)-eno, ciclolauren-2-ol, laurentistich-4-ol, y Arbisabol-9-en-7,11-diol. Los compuestos fueron evaluados sobre líneas celulares de adenocarcinoma de pulmón (A549), cáncer de estómago (BGC-823), cáncer de colon (HCT-8) de cáncer cérvico-uterino y el hepatoma (Bel 7402), destacando laurebifenilo, que mostró valores de concentración inhibitoria media (CI₅₀) < 2.

De igual manera, Su *et al.* (2009) siguieron investigando los sesquiterpenos de *Laurencia similis*, y aislaron 15 metabolitos conocidos: isopalisol, luzonensol, palisadina B, apliestatina, palisadina A, 4-hidroxilo. palisudina C, 5-acetoxipalisadina B, 10-hidroxiaristolán-9-ona, aristol-8-en-1-ona, aristolan-9-en-1-ona, aristolan-1(10)-en-9-ona, aristolan-1(10)-en-9-ol, aristolan-1, 8-dieno, aristolan-1,9-dieno y aristofone y uno nuevo; el sesquiterpeno, (4 E)-1-bromo-5-[(1' S *,3' R *)-3'-bromo-2',2'-dimetil-6'-metilenciclohexil]-3-metilpento-4-eno-2,3-diol.

Los compuestos aislados se evaluaron sobre células de adenocarcinoma de hígado humano (BEL7402), exhibiendo una CI₅₀ > 10 µg/ml.

Kamada y Vairappan (2017) aislaron dos nuevos sesquiterpenos no halogenados de *Laurencia snackeyi*, sankeol y snakediol, junto con nueve sesquiterpenos conocidos como: (R,Z)-33-dimetil-5-metilen-4-(3-metilpenta-24-dien-1-il)ciclohex-1-eno, palisol, pacifigorgiol, palisadina D, palisadina A, palisadina B, 5-acetoxipalisadina B, debromolaurinterol y α-bromocuparano. Estos compuestos fueron ensayados contra cepas patógenas de *E. coli* (QEITBC1204), *Salmonella typhi* (QEITBC1207), *Staphylococcus aureus* (QEITBC1218) y *Vibrio cholerae* (QEITBC1202) destacando sankeol, snakediol, debromolaurinterol y α-bromocuparano por su actividad.

Teniendo en cuenta, los retos de salud pública que representa la resistencia bacteriana, García-Davis *et al.* (2020) evaluaron el efecto *in vitro* de dos sesquiterpenos bromados: Laurinterol y aplysina aislados de *Laurencia johnstonii* contra nueve cepas de *Mycobacterium tuberculosis* y seis micobacterias no tuberculosas, exhibiendo Laurinterol buena actividad contra las bacterias no tuberculosas, en específico contra *M. abscessus*, con concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) entre 6,25–25 µg/ml, valores inferiores al mostrado por el imipenem que es el fármaco de referencia.

Laurinterol también ha sido evaluado *in vitro* frente a trofozoítos de *Naegleria fowleri*, que causa encefalitis amebiana primaria (PAM), la cual puede colonizar el sistema nervioso central (SNC). Además, evaluaron los mecanismos de muerte celular, observando que es capaz de eliminar las amebas a una CI_{50} de 13,42 μ M, mientras que las concentraciones de citotoxicidad eran menores (Arberas-Jiménez *et al.* 2020).

Posteriormente, se evaluó debromolaurinterol, destacando su efecto en la disminución de producción de ATP (99.98 %) (Arberas-Jiménez *et al.* 2022).

El efecto antitumoral de Laurinterol también ha sido evaluado sobre líneas celulares de cáncer de mama (MCF-7) y en cultivos tridimensionales de explantes de cáncer de mama humano observando efectos característicos de apoptosis. Laurinterol presentó una CI_{50} de 16.07 μ g/mL en las células MCF-7 (García-Davis *et al.* 2019).

El compuesto laurenquinona, al igual que Laurinterol, es un sesquiterpeno, con esqueleto tipo ciclolaurano, que ha mostrado un índice de selectividad más alto que el fármaco de referencia miltefosina y un valor de $CI_{50} < 2 \mu$ M (García-Davis *et al.* 2023).

2.9 Compuestos anticancerígenos de *Laurencia*

Monteiro *et al.* (2023) realizaron un fraccionamiento bioguiado del extracto crudo de *L. obtusa* con células gástricas de adenocarcinoma (AGS) destacando la fracción de Hex:AcOEt (CI_{50} 9,23 μ g/mL) que, mediante espectrometría de masas por ionización por electrospray (ESI-MS) determinaron la presencia de sesquiterpenos y diterpenos, sugiriendo a Laurinterol como responsable de la actividad antiproliferativa.

Kim y Kim (2008) analizaron el efecto antimicrobiano y antiproliferativo de Laurinterol aislado de *L. Okamurai*, mostrando un 80 % de disminución de viabilidad en las células de melanoma (B16F1) a una concentración de 50 μ g/mL, después de 24 h de tratamiento.

Ferreira *et al.* (2022) estudiaron el efecto del α -zingibereno que es un sesquiterpeno presente en las hojas de *Casearia sylvestris*, ellos administraron diariamente ese compuesto a una

concentración de 0.01, 0.1 y 1 µg en 10 µl de DMSO al 0.5 % sobre los componentes fibrogénicos, inflamatorios y angiogénicos inducidos por implantes de esponja subcutáneos en ratones. Este sesquiterpeno redujo los vasos sanguíneos medios, la activación de los macrófagos y muy importante la actividad de las MMP-2/9. En el 2024 (Ferreira *et al.* 2024) probaron otro sesquiterpeno, este caso fue el ácido cóstico extraído de *Nectandra barbellata* sobre los implantes subcutáneos de esponjas en ratones, trataron de igual manera diariamente a una concentración de 0.1, 1 y 10 µg en 10 µl de DMSO al 0.5 %, después de 9 días se recolectaron los implantes para su posterior análisis. Observaron la reducción del número de vasos sanguíneos, el contenido de hemoglobina y los niveles de VEGF.

El compuesto d-isofloridosida (DIF), aislado de *Laurencia undulata*, ha mostrado actividad inhibidora de las metaloproteinasas de matriz (MMP). (Yang *et al.* 2021) estudiaron su efecto sobre la metástasis tumoral y la angiogénesis en células HT1080 (fibrosarcoma humano) y HUVEC (células endoteliales vasculares humanas), observando un efecto de reducción de la actividad de las MMP-2/9 e inhibición de la expresión del HIF-1α (factor inducible por hipoxia), pudiendo así regular las vías de PI3K/AKT (regula muchos procesos fundamentales para la célula, como el crecimiento, la proliferación, la apoptosis y el metabolismo) y de MAPK (proteínas quinasas activadas por mitógenos) por lo que se baja la producción de VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular) en las HT1080 inhibiendo así la angiogénesis tumoral.

Aunque Laurinterol ha destacado por su relevante actividad biocida y citotóxica, no se tienen evidencias directas de su efecto en la angiogénesis.

3. JUSTIFICACIÓN

Tanto en el mundo como en México, el cáncer representa un problema de salud pública de gran importancia, debido a la gran cantidad de fallecimientos asociados a este. En las mujeres mexicanas, el cáncer de mama (CM) es el tipo de cáncer más común, siendo los categorizados como triple negativo (CMTN) los más agresivos. Este tipo de cánceres representa del 10 % al 15 % de los casos de cáncer de mama reportados, su complejidad se asocia a una alta tasa de recurrencia y habitualmente a la inducción de metástasis. Dado lo anterior, la búsqueda de nuevas terapias para su control es una constante en la investigación biomédica, siendo el rastreo sistemático de nuevas moléculas una de las opciones más recurridas. Con relación a lo anterior, el ambiente marino representa una excelente fuente de nuevas estructuras químicas y novedosos mecanismos de acción. Los compuestos de esqueleto tipo ciclolauranos, en específico Laurinterol, terpeno de 15 carbonos que se encuentran en algas del género *Laurencia*, han destacado notoriamente por su efecto biocida y citotóxico. Partiendo de esa premisa, en este proyecto se propone analizar el efecto de Laurinterol, aislado de *Laurencia johnstonii* sobre la proliferación, migración e invasión de células de cáncer de mama triple negativo (MDA-MB-231) con el objetivo de proponer este compuesto como líder en la búsqueda de nuevas cabezas de serie para el diseño de nuevas terapias.

4. HIPÓTESIS

El compuesto Laurinterol posee actividad antineoplásica sobre las células de cáncer triple negativo (MDA-MB-231).

5. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antineoplásica de Laurinterol sobre células de cáncer de mama triple negativo (MDA-MB-231).

6. OBJETIVO ESPECÍFICO

1. Aislar y caracterizar el ciclolaurano Laurinterol a partir del extracto etanólico de *Laurencia johnstonii*.
2. Determinar el efecto de Laurinterol sobre la viabilidad y la actividad antiproliferativa en las células MDA-MB-231.
3. Analizar el efecto de Laurinterol sobre la migración e invasión de las células MDA-MB-231.
4. Evaluar *in silico* la interacción del Laurinterol con dos blancos moleculares: Topoisomerasa II α y p53–MDM2.

7. MÉTODOS

7.1 Obtención de Laurinterol

Muestras de *Laurencia johnstonii* se secaron a la sombra, se trituraron, y posteriormente se extrajeron con etanol por tres días, a 25 °C tres veces. Una vez filtrado con papel Whatman No. 4 se secaron con rotavapor a 40 °C.

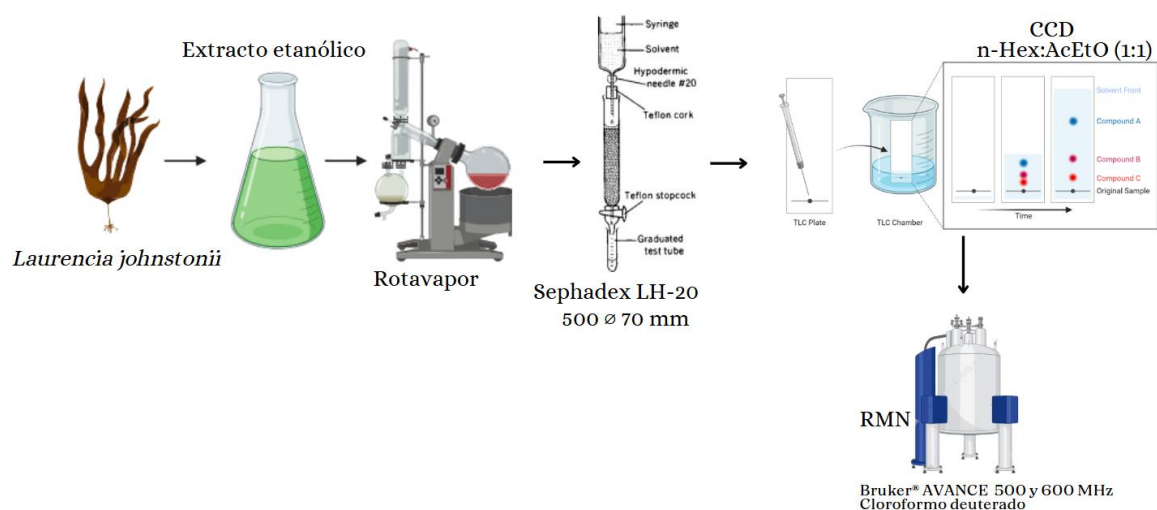


Figura 4. Metodología para la obtención de Laurinterol. Después de obtener *Laurencia johnstonii*, se obtuvo el extracto, el cual fue fraccionado por cromatografía de exclusión molecular, para finalmente ser identificada con RMN.

El fraccionamiento del extracto crudo (10.0 g) fue mediante una cromatografía de exclusión molecular utilizando una columna ($\text{Ø } 7 \times 50 \text{ cm}$) Sephadex® LH-20 (Ref: 1001639875) utilizando MeOH como eluyente. Las fracciones obtenidas que mostraron un perfil cromatográfico similar en la cromatografía de capa fina (TLC) fueron reunidas y el disolvente evaporado, obteniendo así cinco fracciones: SF1 (28 mg), SF2 (2.2 g), SF3 (1.4 g), SF4 (3.2 g) y SF5 (27 mg).

La fracción SF4 (1.0 g) enriquecida con el compuesto activo mayoritario según la bioautografía, se sometió a un siguiente fraccionamiento en una columna ($\text{Ø } 5 \times 25 \text{ cm}$) de sílica gel 60 Å SIGMA® (Ref: 112916-00-8) eluida con n-Hex:AcOEt de polaridad creciente (100:0 a 0:100) y

posterior lavado con DCM:MeOH (100:0 a 0:100). La fracción SF4.3 (707.9 mg) fue analizada por RMN ¹H destacando la presencia de señales características de sustancias sesquiterpénicas. La fracción SF4.3 contiene el compuesto mayoritario puro.

7.2 Preparación celular

Se mantuvieron las células en matraces T-75 en medios de crecimiento estándar a 37 °C, 5 % de CO₂ y 95 % de humedad. En medios de crecimiento estándar fue Eagle modificado por Dulbecco DMEM (Sigma, 1003413344). Se permitió que las células se repliquen hasta alcanzar una confluencia del 90-100 %. Usando una campana de flujo de cultivo (1300 SERIES A2, Modelo 1385, Thermo Scientific) de tejidos estéril, se aspiraron los medios del matraz y se lavaron las células con 10 ml de PBS 1x (Thermo Scientific, AM9624). Aspirar el PBS y agregar 5 ml de tripsina-EDTA 1x (0.05 %) (Gibco, Lote 2660233) al matraz, asegurándose de que las células estén cubiertas por tripsina. Se colocó el matraz en la incubadora (Modelo 3403, Thermo Scientific) de laboratorio mantenida a 37 °C, 5 % de CO₂ y 95 % de humedad hasta que todas las células se desprendieron del fondo del matraz (aproximadamente 5-10 min). Finalmente se agregaron 10 mL de medio de crecimiento precalentado al matraz para desactivar la tripsina-EDTA.

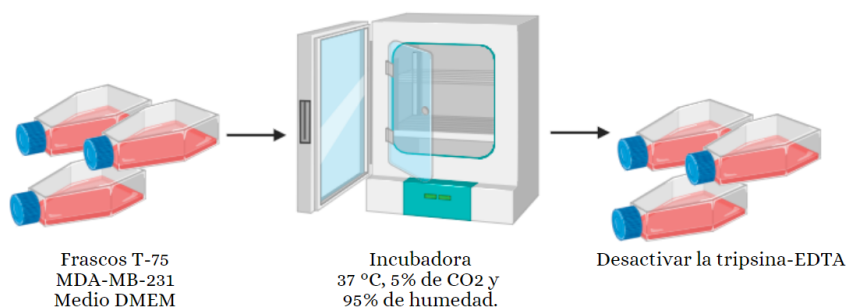


Figura 5. Metodología para cultivo celular. Las células se mantuvieron en condiciones óptimas de 37 °C, 5 % de CO₂ y 95 % de humedad para su correcto crecimiento en medio DMEM.

7.3 Ensayo de viabilidad

Después de la preparación celular, se sembraron en placas de 96 pocillos a una densidad de 5×10^3 células por pocillo en medios de crecimiento estándar. Fueron colocadas las células en una incubadora a 37 °C, 5 % de CO₂ y 95 % de humedad hasta que las células se hayan adherido. Se agregaron los tratamientos planteados y se colocaron las placas de 96 pocillos en una incubadora a 37 °C, 5 % de CO₂ y 95 % de humedad. Después de 24 h de tratamiento se agregaron 10 µL WST1 (Merck, 5015944001) en cada pocillo, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 440 nm en un lector de placas (Synergy HT, 232520) (Kisanga *et al.* 2019).

Tratamientos	Composición
Control negativo	DMSO 30 µg/mL
T1 Laurinterol	30, 20, 15 y 10 µg/mL de Laurinterol + DMSO

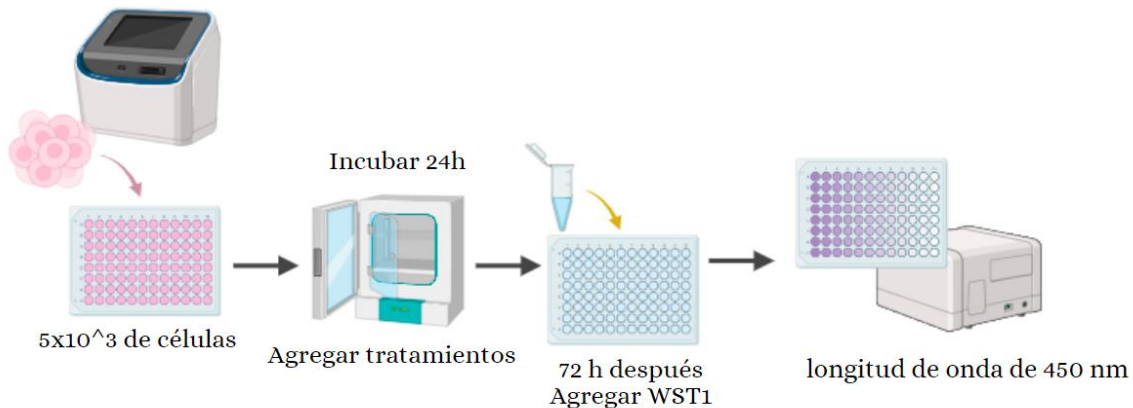


Figura 6. Metodología del ensayo de viabilidad celular. Se sembraron las células en placas de 96 pocillos, pasadas 24 h se añadieron los tratamientos correspondientes, después de 72 h se añadió el WST1 para finalmente medir la absorbancia.

7.4 Ensayo de proliferación

Para evaluar el efecto del Laurinterol sobre la capacidad clonogénica de las células MDA-MB-231, se llevó a cabo un ensayo de formación de colonias. Las células fueron sembradas en placas de 6 pozos a una densidad inicial de 400 células por pozo y se incubaron en medio DMEM suplementado con 10 % de suero fetal bovino y 1 % de antibiótico.

Los tratamientos se aplicaron en tres condiciones experimentales: células sin tratamiento (NT), células tratadas con la concentración correspondiente a la IC₂₀, y células tratadas con la IC₅₀ de Laurinterol. Los tratamientos se mantuvieron de forma continua durante 10 días, periodo en el cual se reemplazó el medio cada 72 horas. Finalizado el periodo de incubación, las células fueron lavadas con PBS, fijadas con metanol al 100 % durante 20 minutos y posteriormente teñidas con cristal violeta al 0.5 % durante 30 minutos. Las colonias formadas (≥ 50 células) fueron observadas al microscopio y cuantificadas manualmente en cada pozo. Los datos obtenidos se expresaron como porcentaje relativo respecto al grupo control (NT).

Tratamientos	Composición
Control negativo	Células sin tratamiento
Laurinterol	Laurinterol CI ₅₀ e CI ₂₀

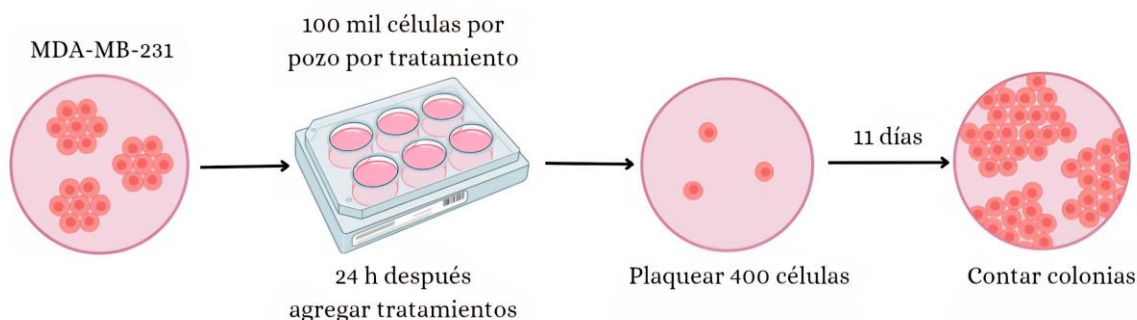


Figura 7. Metodología del ensayo de proliferación. Se sembraron las células en placas de 24 pocillos, pasadas 24 h se añadieron los tratamientos correspondientes, después de 48 h se tomaron las fotografías correspondientes.

7.5 Ensayo de Migración

Se sembraron 200,000 células en una placa de 24 pocillos para lograr una confluencia del 100% en 24h. Al día siguiente, se cambió el medio a nuevo medio con 10 % de SFB (Gibco, A5256701). Para crear heridas uniformes, se colocaron las puntas de pipeta estériles para crear heridas, se bajó la punta a la primera fila de pocillos y se movió la placa hasta que la punta de la pipeta llegue al otro lado del pocillo. Este paso se repitió 4 veces hasta que se rayen todos los pocillos. Se aspiró

con cuidado el medio y se lavaron suavemente las células dos veces con PBS 1x (Thermo Scientific, AM9624). Después de un lavado final, se agregó medio suplementado al 1 % de FBS con los respectivos tratamientos. Por último, se colocó la placa de 24 pocillos que contiene los pocillos rayados en una incubadora (Modelo 3403, Thermo Scientific) a 37 °C, 5 % de CO₂ y 95 % de humedad. Se tomaron imágenes por pocillo a intervalos regulares según sea necesario, en este caso a las 0 h, 24 h y 48 h, ya que estos intervalos permitieron que las células completaran la curación de la herida, para calcular la densidad y ancho de la herida (Kisanga *et al.* 2019).

Tratamientos	Composición
Control negativo	Células sin tratamiento
Laurinterol	Laurinterol CI ₅₀ e CI ₂₀

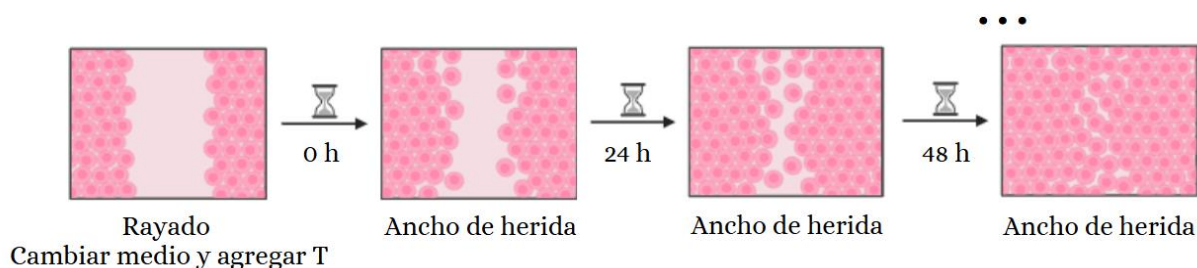


Figura 8. Metodología del ensayo de migración. Se sembraron células en una placa de 24 pocillos. Al día siguiente, se realizaron raspados uniformes en cada pocillo utilizando puntas de pipeta. Luego, se agregó medio suplementado con el tratamiento y con 1 % de FBS y se incubó para obtener imágenes a intervalos de 0 h, 24 h y 48 h para evaluar la curación de la herida y medir su densidad.

7.6 Ensayo de invasión

Después de la preparación celular, se sembró el número adecuado de células en placas de 6 pocillos para permitir que las células alcancen el 90 % de confluencia en 48 horas. Se mantuvieron las células en una incubadora (Modelo 3403, Thermo Scientific) a 37 °C, 5 % de CO₂ y 95 % de humedad. Después de 24 h se colocó el vial de matriz extracelular de 10 mg/ml en hielo y se descongeló durante la noche. Al día siguiente, se enfriaron los suministros del ensayo de invasión

colocando placas de 24 pocillos, transwell (Merck, CLS3413-48EA) de cultivo celular, tubos de microcentrífuga y puntas de pipeta en el refrigerador (4 °C) durante al menos 2 h antes de trabajar con la matriz extracelular. Utilizando suministros refrigerados en la campana de cultivo de tejidos, se diluyeron 10 mg/ml de matriz extracelular 1:1 (Merck, ECM554) con medio sin FBS hasta una concentración final de 5 mg/mL. Posteriormente se agregaron 600 µL de matriz extracelular diluida a los transwell que se colocaron en la placa de 24 pocillos. Se colocó la placa de 24 pocillos que contiene transwells recubiertos de matriz en la incubadora a 37 °C para permitir que la matriz se endurezca. Para preparar las células para el ensayo de invasión, se lavaron las células con 1 ml de 1x PBS (Thermo Scientific, AM9624), se aspiró el PBS y se agregaron 500 µl de 1x tripsina-EDTA (Gibco, Lote 2660233) a cada pocillo. Se colocó la placa de 6 pocillos en la incubadora a 37 °C, 5 % de CO₂ y 95 % de humedad hasta que todas las células se desprendieron del fondo de la placa. Una vez que las células se desprendieron, se agregó 500 µL de medio sin suero FBS a cada pocillo de las células tripsinizadas. Se transfirieron 1,000 µl de células desprendidas al tubo de microcentrífuga y se centrifugó durante 5 min a 400 x g 4°C. Se aspiró el medio y las células resuspendidas en un medio libre de suero. Se contaron las células y se ajustó el volumen de suspensión celular para una concentración final de 21 mil células por ml. Posteriormente se agregaron 600 µL de medio de crecimiento completo a los pocillos de la placa de 24 pocillos que se utilizaron para el ensayo de invasión. Se colocaron los transwells pre-revestidos en cada pocillo que contenga medio de crecimiento completo que se utilizó para el ensayo de invasión. Luego se agregaron 200 µL de células dentro de cada transwell de células pre-revestidas para un total de 1 x 10⁵ células. Como control negativo para este ensayo, se agregó a la cámara superior un volumen igual de medio sin suero. Por último las placas de 24 pocillos se colocaron en la incubadora a 37 °C, 5 % de CO₂ y 95 % de humedad durante 48 h. Después de la incubación durante la noche, se retiró el medio restante de la cámara superior e inferior sin alterar la matriz extracelular. Luego, fue retirada con cuidado la matriz extracelular y las células no invadidas de la parte superior del transwell con un hisopo de algodón, frotando tantas veces como sea necesario para eliminar la matriz extracelular. Se lavó cada inserto 3 veces con PBS 1x, agregando PBS a las cámaras superior e inferior del pocillo. El PBS se aspiró después de cada lavado. Se fijaron las células adheridas a los transwell colocándolos en metanol 100 % helado durante 30 min a 4 °C. Se lavaron los transwell 3 veces con PBS 1x y se quitó el PBS después del lavado final. Las células adheridas a los transwell fueron teñidas durante 30 minutos con cristal violeta al 0.5 % y etanol al 20 %, se

lavó 3 veces con agua desionizada y se aspiró después del lavado final. Los transwell fueron secados durante 2 h a temperatura ambiente. Con unas pinzas y una hoja de afeitar, se cortó la membrana inferior y se montó en un portaobjetos de vidrio con la parte inferior hacia arriba. Se obtuvieron al menos 6 imágenes únicas de células invadidas por muestra utilizando un microscopio óptico con un objetivo de 20x. Se contó el número total de celdas en cada imagen (Kisanga *et al.* 2019).

Tratamientos	Composición
Control negativo	Células sin tratamiento
Laurinterol	Laurinterol CI_{50} e CI_{20}

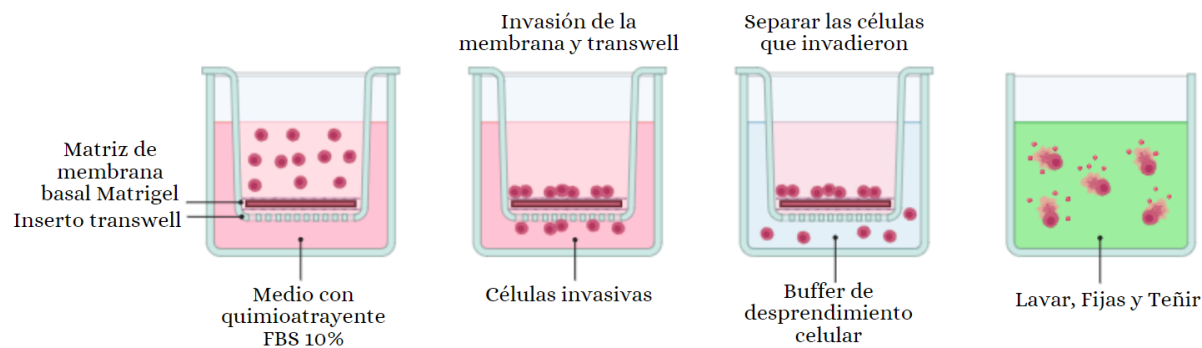


Figura 9. Metodología del ensayo de invasión. Se sembraron células en placas de 6 pocillos hasta alcanzar el 90 % de confluencia. Se preparó la matriz extracelular y se recubrieron transwells en placas de 24 pocillos. Las células fueron tripsinizadas, centrifugadas y resuspendidas, luego se agregaron a los transwell pre-revestidos y se incubaron por 48 h. Después, se retiraron las células no invadidas y la matriz extracelular, las células adheridas se fijaron, teñieron y montaron en portaobjetos, donde se obtendrán imágenes para contar las células invasoras.

7.7 Docking *in silico*

Los estudios de acoplamiento molecular se realizaron utilizando la plataforma CB-Dock2 y el software UCSF Chimera. La estructura tridimensional del ligando Laurinterol fue obtenida desde la base de datos PubChem/ZINC20, y posteriormente fue optimizada en Avogadro 2, realizando

la conversión a formato 3D, asignación de cargas y minimización de energía mediante el campo de fuerza predeterminado. Las estructuras cristalinas de las proteínas diana Topoisomerasa II α (PDB ID: 5GWK) y p53–MDM2 (PDB ID: 4OQ3) se obtuvieron de la base de datos Protein Data Bank (PDB). Previamente al acoplamiento, las proteínas fueron preparadas eliminando moléculas de agua y ligandos no esenciales, añadiendo hidrógenos polares y ajustando las cargas en UCSF Chimera.

El acoplamiento se llevó a cabo mediante CB-Dock2, el cual identifica automáticamente las cavidades de unión y genera los centros de grid correspondientes. Se utilizó la configuración por defecto del servidor, generando múltiples poses para cada cavidad potencial. Las mejores conformaciones se seleccionaron con base en el valor de energía de acoplamiento (Vina score) y la estabilidad de la interacción dentro del sitio activo.

Finalmente, las interacciones ligando-proteína, así como los aminoácidos clave involucrados en el sitio de unión, fueron analizadas visualmente en UCSF Chimera para identificar posibles enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y contactos π - π .

Proteínas	Código PDB	Ligando	Herramienta	Parámetros
Topoisomerasa II α	5GWK	Larurinterol	CB-Dock	Caja automática/ mejor ΔG RMSD <2.0
p53–MDM2	4OQ3			

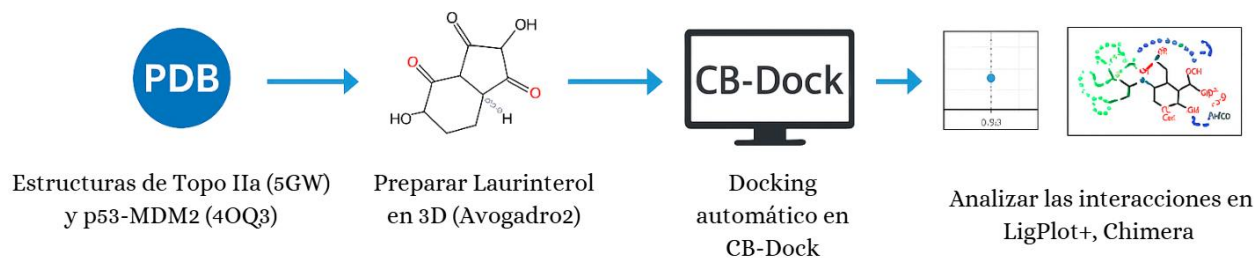


Figura 10. Metodología para la realización del Docking. Utilizando las proteínas Topoisomerasa II α y el complejo p53–MDM2.

8. DISEÑO EXPERIMENTAL

En el caso de la metodología de viabilidad, se tomaron las absorbancias de cada tratamiento y se trazaron en función del tiempo. Las concentraciones inhibitorias (CI) se calcularon realizando un análisis de regresión no lineal utilizando el software GraphPAD Prism 8.0 .

En el caso de la metodología de formación de colonias (proliferación) se contó el número de colonias formadas en cada tratamiento, para posteriormente realizar ANOVA de una vía seguida de Dunnett, utilizando el software GraphPAD Prism 8.0 .

En el caso de la metodología de migración, los datos obtenidos fueron las medidas de los anchos obtenidos en la cicatrización. El análisis estadístico de los grupos de tratamiento individuales a lo largo del tiempo se realizaron mediante un ANOVA de dos vías seguido de la prueba de comparación múltiple de Dunnett, utilizando el software GraphPAD Prism 8.0 .

En el caso de la metodología de invasión, las células invasoras se contaron con un microscopio óptico con un objetivo 20x por inserto, se obtuvieron los promedios. El análisis estadístico se realizó mediante un ANOVA de un factor seguido de la prueba de comparación múltiple de Dunnett, utilizando el software GraphPAD Prism 8.0 .

9. RESULTADOS

9.1 Objetivo 1-. Identificación y caracterización de Laurinterol

El extracto etanólico fue sometido a un primer fraccionamiento por cromatografía de exclusión molecular y se obtuvieron cinco fracciones de las cuáles, SF4 presentó el compuesto mayoritario. Del fraccionamiento de SF4 se obtuvieron seis fracciones, siendo SF4.6 el compuesto mayoritario puro. SF4.2 presentó señales similares a SF4.6, por lo que fue purificada mediante cromatografía de alta eficacia y se obtuvieron cinco compuestos puros.

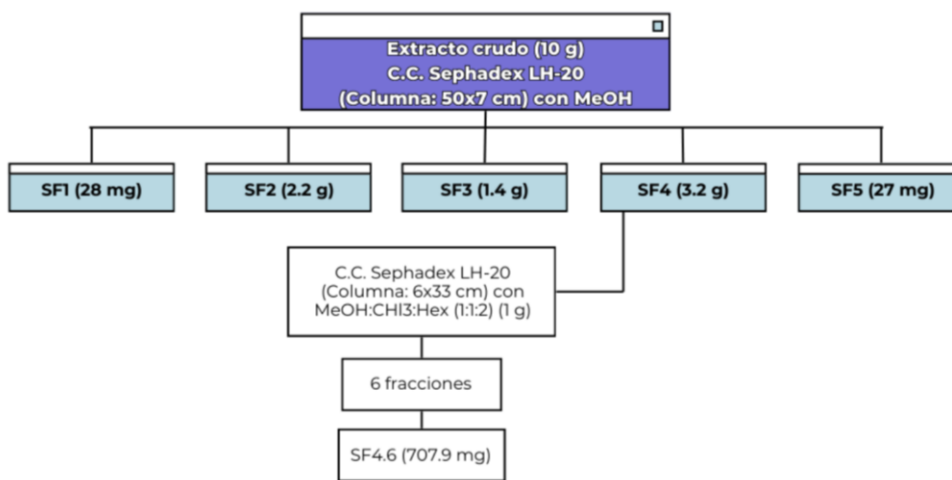
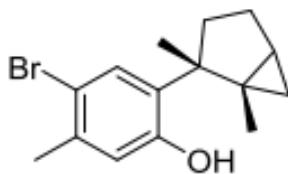


Figura 11. Fraccionamiento del extracto de *Laurencia johnstonii*.

Como resultado de los distintos procesos cromatográficos y del análisis de RMN de ^1H del Laurinterol, este fue sometido posteriormente a RMN de ^{13}C , espectrometría de masas de alta resolución y actividad óptica. El análisis de los datos espectroscópicos del compuesto aislado indicó que pertenece al grupo de los sesquiterpenos (C-15).



Laurinterol (1)

Figura 12. Sesquiterpeno aislado de *Laurencia johnstonii*.

Laurinterol (1): C₁₅H₁₉BrO, HRESIMS m/z 293.0531 [M-H]⁻ (calc. para C₁₅H₁₈O ⁷⁹Br, 293.0541), 295.0518 [M-H]⁻ (calc. para C₁₅H₁₈O ⁸¹Br, 295.0521) [α]²⁵D +16.88 (c 0.15, CH₂Cl₂). En el espectro de protón del Laurinterol se observan dos señales características de hidrógenos aromáticos (δ 6.61 y δ 7.61), una señal correspondiente al protón de un grupo hidroxilo (δ 5.26), dos metilos sobre C sp³ (δ 1.32 y δ 1.41) y un metilo aromático (δ 2.29), cinco metinos y metilenos entre δ 1.15-2.09 y dos señales características de un ciclopropano (δ 0.55 y δ 0.58).

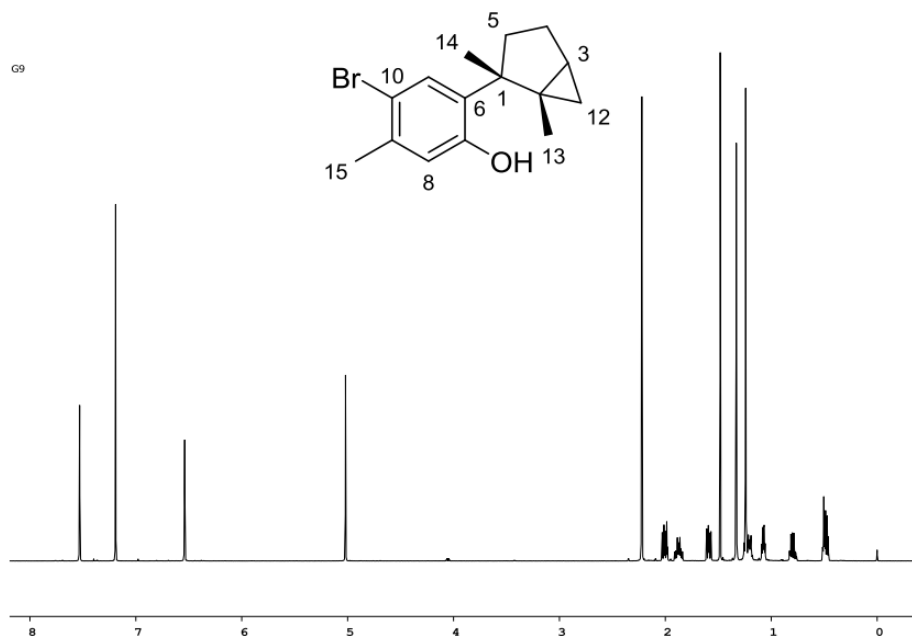


Figura 13. Espectro de RMN de ¹H de Laurinterol (CDCl₃, 500 MHz).

#	¹³ C	Multipl.	¹ H	J (Hz)
1	48.0			
2	29.6			
3	24.4	dt	1.15	8.1,4.3
4	25.3	dd	1.66	12.3,8.0
		tdd	1.95	12.3, 8.1, 4.4
5	35.9	m	1.28	
		dd	2.09	13.2,8.1
6	134.0			
7	153.3			
8	118.8	s	6.61	
9	135.9			
10	114.9			
11	132.3	s	7.61	
12	16.2	dd	0.55	7.9,4.8
		t	0.58	4.6
13	18.6	s	1.32	
14	22.2	s	1.41	
15	23.5	s	2.29	
OH-7		s	5.26	

9.2 Objetivo 2-. Viabilidad y Proliferación

Utilizando las concentraciones 10, 15, 20 y 30 $\mu\text{g/mL}$ sobre células MDA-MB-231 a 100 minutos con WST1.

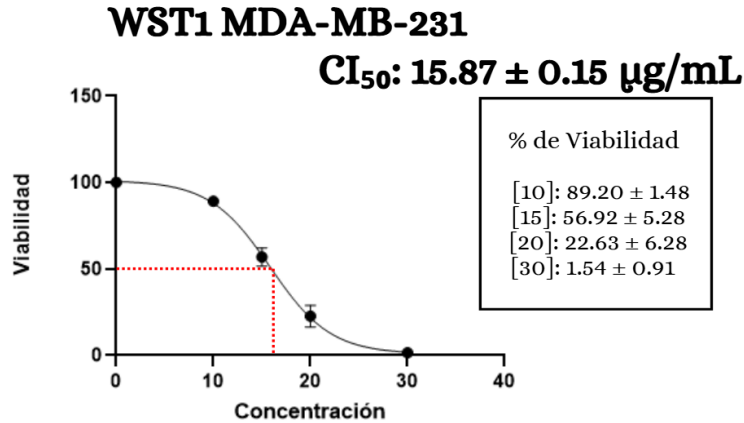


Figura 14. Regresión no lineal del ensayo WST1 de MDA-MB-231. Se grafican las concentraciones 10, 15, 20 y 30 $\mu\text{g/mL}$, obteniendo viabilidades de 89.20 %, 56.92 %, 22.63 % y 1.54 % respectivamente, con una R^2 de 0.9946. Obteniendo una CI_{50} de 15.87 $\mu\text{g/mL}$.

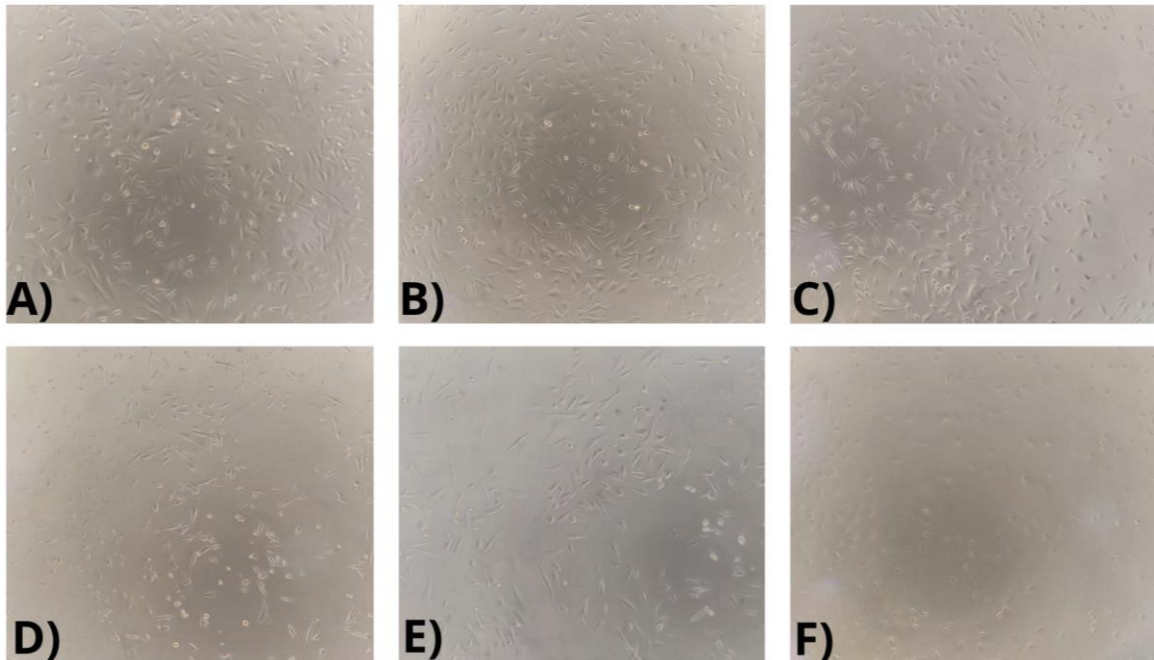


Figura 15. Ensayo de viabilidad en células MDA-MB-231 frente a Laurinterol. A) Células sin tratamiento. B) Células con 30 $\mu\text{g/mL}$ de DMSO. C) Células con 10 $\mu\text{g/mL}$ de Laurinterol. D) Células con 15 $\mu\text{g/mL}$ de Laurinterol. E) Células con 20 $\mu\text{g/mL}$ de Laurinterol. F) Células con 30 $\mu\text{g/mL}$ de Laurinterol. Se realizó por triplicado $n=3$.

Utilizando las concentraciones 10, 15, 20 y 30 $\mu\text{g/mL}$ sobre células HUVEC a 40 minutos con WST1.

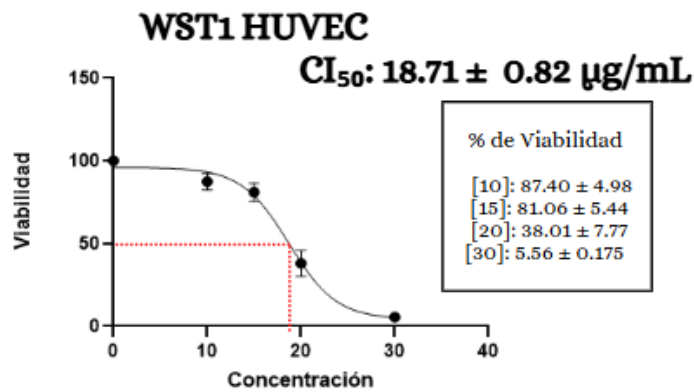


Figura 16. Regresión no lineal del ensayo WST1 de HUVEC. Se grafican las concentraciones 10, 15, 20 y 30 $\mu\text{g/mL}$, obteniendo viabilidades de 87.40 %, 81.06 %, 38.01 % y 5.56 % respectivamente, con una R^2 de 0.9820. CI₅₀: 18.71 $\mu\text{g/mL}$.

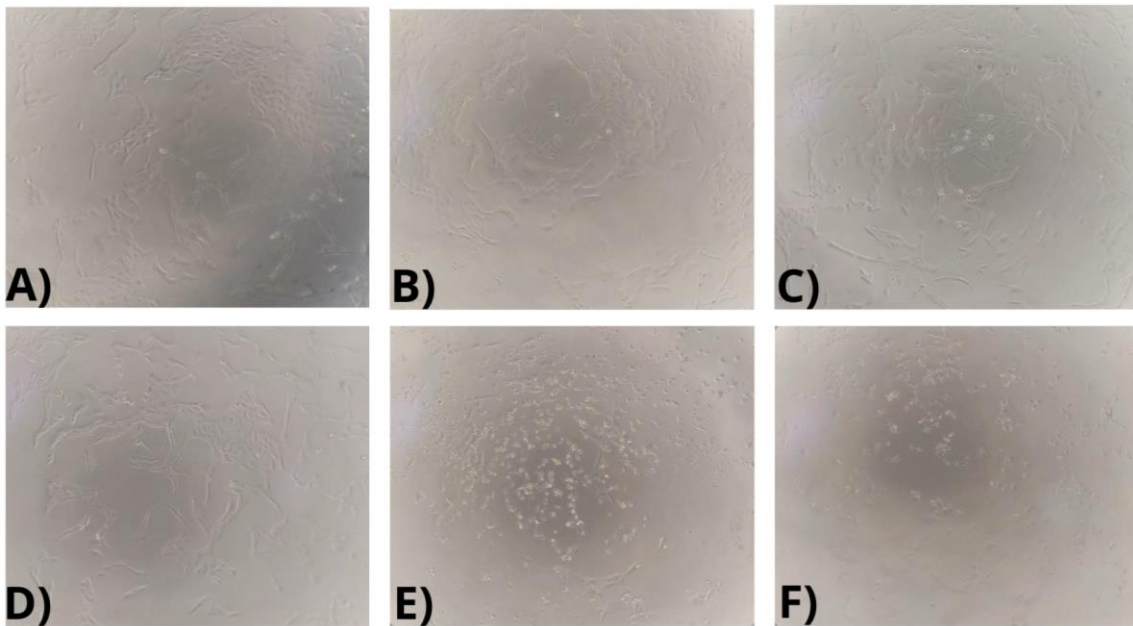


Figura 17. Ensayo de viabilidad en células HUVEC frente a Laurinterol. A) Células sin tratamiento. B) Células con 30 $\mu\text{g/mL}$ de DMSO. C) Células con 10 $\mu\text{g/mL}$ de Laurinterol. D) Células con 15 $\mu\text{g/mL}$ de Laurinterol. E) Células con 20 $\mu\text{g/mL}$ de Laurinterol. F) Células con 30 $\mu\text{g/mL}$ de Laurinterol. Se realizó por triplicado $n= 3$

Con el objetivo de evaluar la capacidad proliferativa de las células MDA-MB-231 después del tratamiento con Laurinterol, se realizó un ensayo de formación de colonias. Las células fueron

tratadas con concentraciones equivalentes a CI_{50} e CI_{20} del compuesto durante 10 días, y posteriormente se tiñeron con cristal violeta para visualizar las colonias proliferativas.

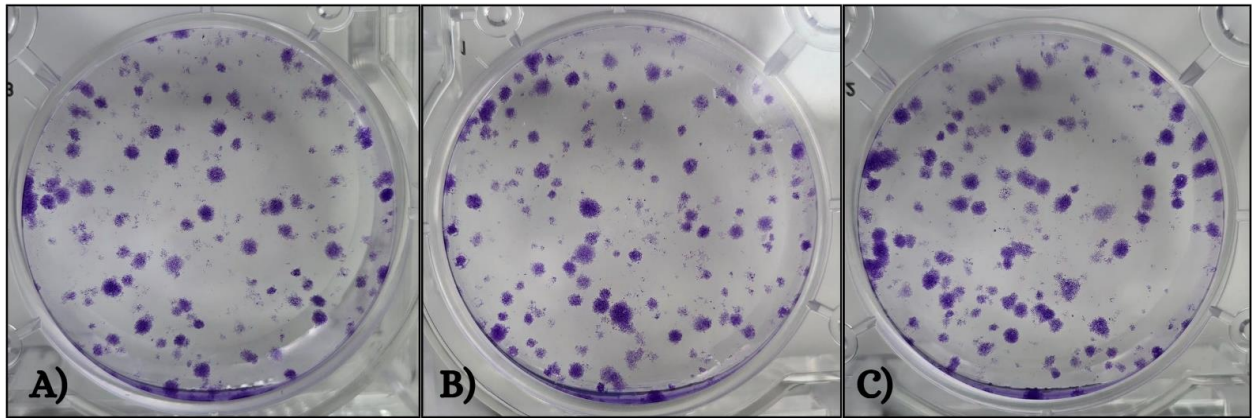


Figura 18. Efecto de Laurinterol sobre proliferación en MDA-MB-231. A) Células MDA-MB-231 sin tratamiento. B) Células aplicando la CI_{20} de Laurinterol a los 10 días. C) Células aplicando la CI_{50} de Laurinterol a los 10 días. Se realizó por triplicado $n=3$.

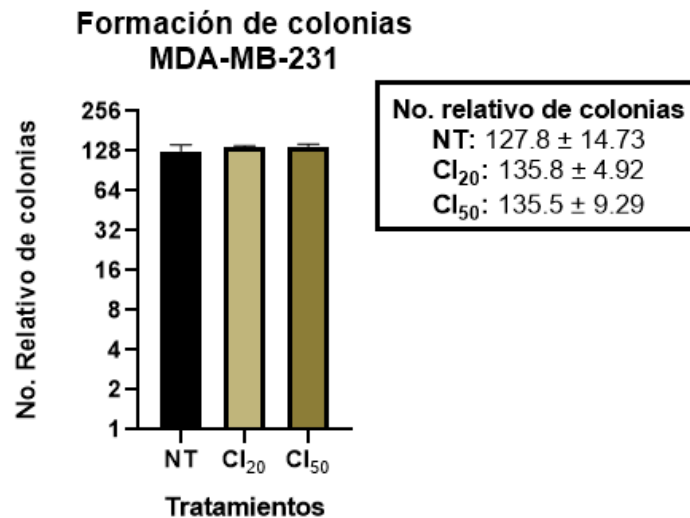


Figura 19. Número relativo de colonias. Los resultados muestran que las células tratadas con CI_{50} presentaron un número promedio de 135 colonias, ligeramente superior al grupo control (NT), que presentó 127 colonias, mientras que el grupo tratado con CI_{50} mostró un promedio de 135 colonias. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el grupo control, lo cual sugiere que el Laurinterol no inhibe de manera sostenida la capacidad proliferativa a largo plazo bajo las condiciones evaluadas.

9.3 Objetivo 3-. Migración e Invasión

Para evaluar el efecto del Laurinterol sobre la migración de células MDA-MB-231, se realizó un ensayo de cicatrización de heridas (wound healing) con tratamientos a concentraciones equivalentes a CI_{20} e CI_{50} junto con un grupo no tratado (NT).

No se encontraron diferencias significativas entre CI_{20} e CI_{50} , lo que sugiere que incluso concentraciones bajas del compuesto son suficientes para inhibir la migración celular de manera efectiva, posiblemente a la existencia de un umbral de sensibilidad celular al Laurinterol.

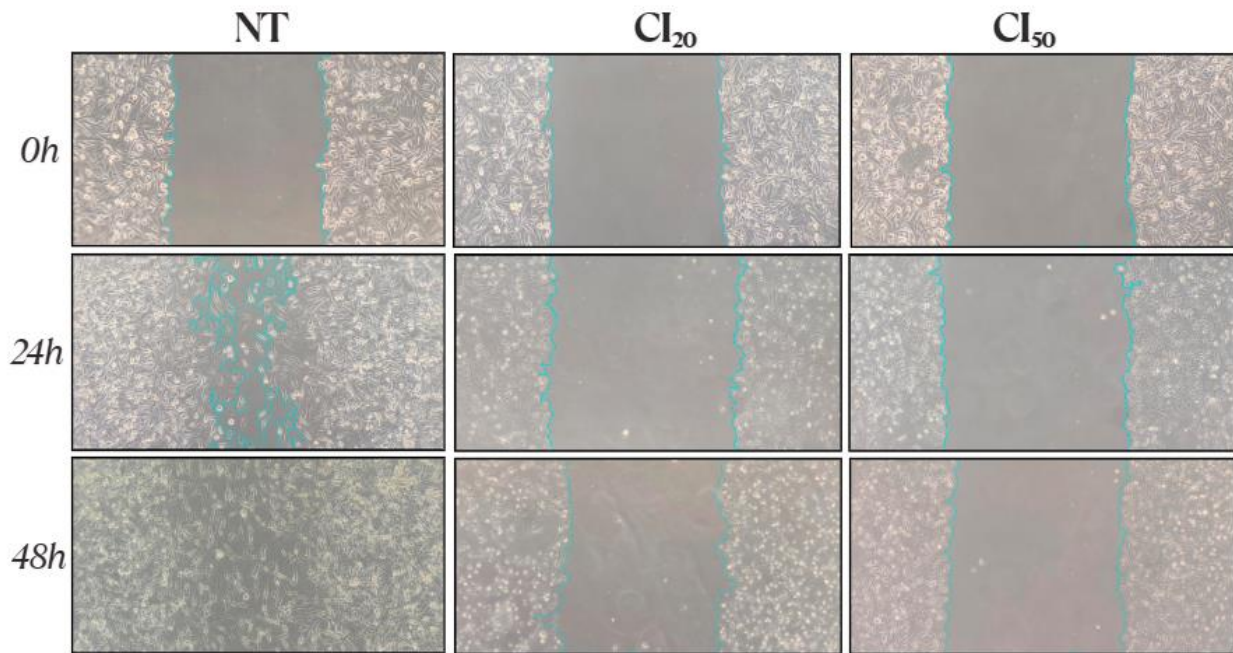


Figura 20-. Efecto de Laurinterol sobre la migración en células MDA-MB-231. Se muestran imágenes representativas de la cicatrización de la herida a 0, 24 y 48 horas en células no tratadas (NT) y tratadas con Laurinterol a concentraciones correspondientes a CI_{20} (11.7 $\mu\text{g/mL}$) e CI_{50} (15.87 $\mu\text{g/mL}$). Las líneas azules marcan los bordes de la herida utilizados para la cuantificación, este análisis se realizó en ImagenJ con el complemento Wound healing tools.

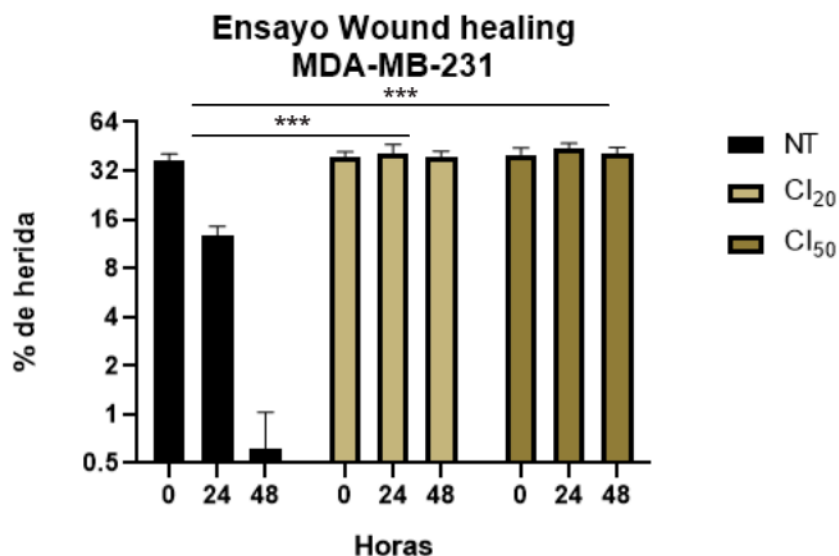


Figura 21. Cuantificación del efecto de Laurinterol sobre la migración en MDA-MB-231. Se muestra el porcentaje de herida restante a 0, 24 y 48 horas en células tratadas con Laurinterol a concentraciones equivalentes a CI₂₀ e CI₅₀ y un grupo no tratado (NT). Los datos fueron analizados mediante ANOVA de dos vías seguido de prueba de comparaciones múltiples de Dunnett. Se observó una inhibición significativa de la migración en ambos tratamientos en comparación con NT ($p < 0.0001$). No se detectaron diferencias significativas entre CI₂₀ e CI₅₀, lo cual sugiere un efecto inhibitorio máximo alcanzado incluso a concentraciones bajas. Se utilizó GraphPAD Prism 8.0

El análisis estadístico mostró que el tratamiento tuvo un efecto altamente significativo sobre la migración celular ($p < 0.0001$), explicando el 61.34 % de la variación total. Asimismo, se observó un efecto significativo del tiempo ($p = 0.0022$; 9.36 % de la variación) y una interacción significativa entre tiempo y tratamiento ($p = 0.0002$; 26.07 % de la variación), lo cual indica que el efecto del tratamiento sobre la migración depende del momento en que se evalúa.

Para determinar el efecto del Laurinterol sobre la capacidad invasiva de las células MDA-MB-231, se realizó un ensayo de invasión utilizando cámaras Transwell con recubrimiento de matriz extracelular. Las células fueron tratadas durante 48 horas con las concentraciones CI_{20} e CI_{50} del compuesto, y posteriormente se cuantificó el número relativo de células que lograron invadir la membrana.

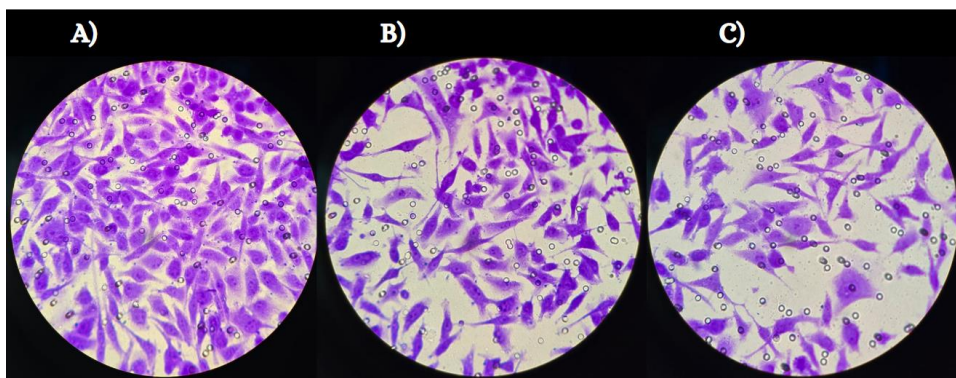


Figura 22. Ensayo de Invasión con Transwell. A) Células MDA-MB-231 sin tratamiento. B) Células con CI_{20} de Laurinterol a las 48 h. C) Células con CI_{50} de Laurinterol a las 48 h. Se realizó por triplicado $n=3$.

Se pudo observar en el ensayo de invasión la diferencia entre los tratamientos, siendo el más efecto el tratamiento con CI_{50} de Laurinterol. Se obtuvo una reducción de la invasión con CI_{20} de 22.7 % y con CI_{50} una reducción del 38.7 % .

El ensayo de invasión con Transwell permite evaluar de manera directa la capacidad de las células cancerosas para atravesar una matriz extracelular, simulando así un proceso clave en la metástasis. Este modelo es ampliamente utilizado para estudiar el potencial metastásico y la eficacia de agentes antitumorales.

Invasión con Transwell MDA-MB-231

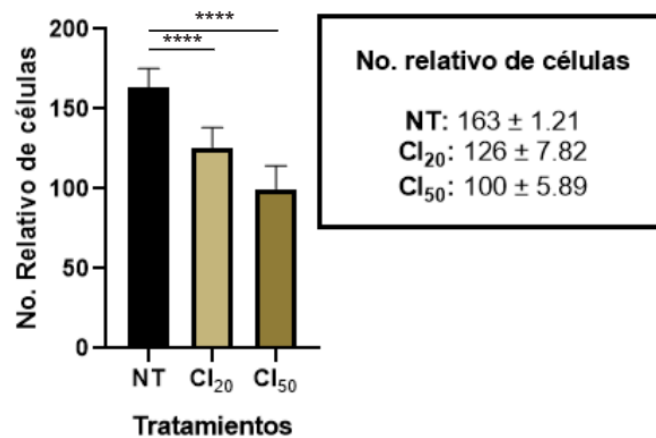


Figura 23. El Laurinterol inhibe de manera significativa la capacidad invasiva de las células MDA-MB-231, siendo más evidente el efecto con la concentración CI₅₀, lo cual respalda su potencial como agente antimetastásico. n=3

Los resultados muestran que el grupo no tratado (NT) presentó un número promedio de 163 ± 1.21 células invasoras, mientras que los tratamientos con CI₂₀ e CI₅₀ mostraron una reducción significativa, con promedios de 126 ± 7.82 y 100 ± 5.89 , respectivamente. El análisis estadístico mediante ANOVA mostró diferencias significativas entre los grupos ($p = 0.0147$). La prueba post hoc de comparaciones múltiples de Dunnett confirmó que tanto CI₂₀ como CI₅₀ redujeron significativamente la invasión celular en comparación con NT ($p = 0.0458$ y $p = 0.0107$, respectivamente).

9.4 Objetivo 4-. Docking *In Silico*

El análisis de acoplamiento molecular permitió evaluar la afinidad del Laurinterol hacia proteínas clave relacionadas con procesos metastásicos en cáncer de mama triple negativo. El ligando fue acoplado a las estructuras cristalinas de Topoisomerasa II α (5GWK) y p53–MDM2 (4OQ3) utilizando la plataforma CB-Dock2, seleccionándose las poses con menor energía libre de unión y menor desajuste conformacional (RMSD).

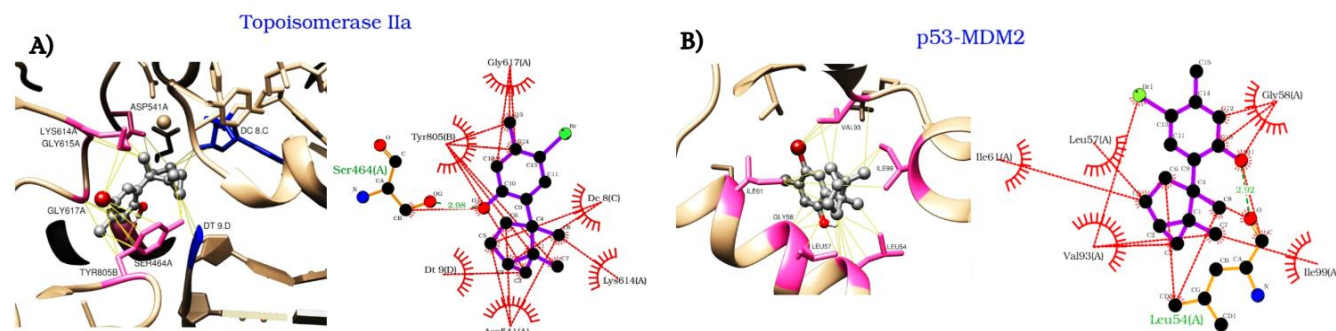


Figura 24. Acoplamiento molecular del Laurinterol. Donde A) es Topoisomerasa II α y B) es p53-MDM2.

En la Topoisomerasa II α , el Laurinterol presentó una energía de acoplamiento promedio de -5.951 ± 0.369 kcal/mol, con un RMSD de 1.948 ± 0.585 Å. Se observaron interacciones hidrofóbicas principalmente con los residuos Ser464, Asp541, Gly617, Lys614, Tyr806, Asp, Gln, así como un puente de hidrógeno con Ser464, lo que sugiere una unión estable dentro del sitio catalítico de la enzima.

En el complejo p53–MDM2, el Laurinterol mostró un valor de afinidad similar (-5.614 ± 0.327 kcal/mol) y un RMSD de 1.867 ± 0.195 Å. Las interacciones estuvieron caracterizadas por contactos hidrofóbicos con Ile61, Leu57, Val93, Leu54, Glu58, Ile99, además de un puente de hidrógeno con Leu54. Estos residuos han sido previamente descritos como críticos para la estabilización del dominio de interacción p53–MDM2, lo que indica que el Laurinterol podría interferir en esta unión y favorecer la actividad tumoral supresora de p53.

Tabla 3. Resultados de las interacciones. Interacciones entre las proteínas y el Laurinterol.

Proteína	Docking score (kcal/mol)	RMSD	Interacciones
Topoisomerasa II α	-5.951 ± 0.369	1.948 ± 0.585	Interacciones hidrofóbicas: Ser464, Asp541, Gly617, Lys614, Tyr805, Dt9, Dc8. Puente de hidrógeno: Ser464.

p53-MDM2	-5.614 ± 0.327	1.867 ± 0.195	Interacciones hidrofóbicas: Ile61, Leu57, Val93, Leu54, Glk58, Ile99. Puente de hidrógeno: Ile99.
----------	--------------------	-------------------	--

En conjunto, estos resultados sugieren que el Laurinterol posee una afinidad moderada pero estable por ambas dianas moleculares, acompañada de interacciones relevantes para su potencial actividad antimetastásica. La presencia de interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno clave apoya la posibilidad de que el Laurinterol module procesos asociados a proliferación y metástasis, lo cual es consistente con los efectos biológicos observados en los ensayos *in vitro* realizados en la línea MDA-MB-231.

10. DISCUSIÓN

El análisis por RMN confirmó la identidad del compuesto aislado como Laurinterol, un sesquiterpeno halogenado característico del género *Laurencia*. En el espectro de ^1H RMN se observaron señales consistentes con un sistema aromático, con protones deslocalizados, así como la presencia de un protón fenólico, ambos patrones descritos previamente para este compuesto. Adicionalmente, la presencia de señales correspondientes a grupos metilo y metileno, así como señales características de un anillo ciclopropano, corroboraron la naturaleza sesquiterpénica del esqueleto.

Estudios pioneros realizados por Irie *et al.*, (1966) describieron por primera vez el Laurinterol aislado de *Laurencia intermedia*, identificando un esqueleto sesquiterpénico aromático bromado con señales distintivas de grupos metilo, un anillo ciclopropano y un núcleo fenólico. Estos patrones espectroscópicos fueron fundamentales para el establecimiento de la estructura original del compuesto y sirven como referencia clásica para su identificación. Posteriormente, Ishii *et al.*, (2017) aislaron Laurinterol de *Laurencia nidifica* y confirmaron dichas características mediante espectroscopía, reportando protones aromáticos, un protón fenólico desprotegido, así como señales alifáticas propias del esqueleto sesquiterpénico y del característico anillo ciclopropano. Los valores observados en este trabajo coinciden estrechamente con los desplazamientos químicos y patrones de multiplicidad reportados por Irie *et al.*, (1966) e Ishii *et al.*, (2017), confirmando la identidad del compuesto como Laurinterol.

Los resultados obtenidos en los ensayos de viabilidad celular mediante WST-1 demostraron que el Laurinterol ejerce un efecto citotóxico dependiente de la concentración tanto en células MDA-MB-231 como en células HUVEC. El valor de CI_{50} para MDA-MB-231 fue de 15.87 ± 0.15 $\mu\text{g/mL}$, mientras que para las células HUVEC fue de 18.71 ± 0.82 $\mu\text{g/mL}$, lo que indica una leve sensibilidad de las células tumorales frente a las células endoteliales sanas, aunque se requieren más estudios para confirmar esta selectividad.

Al comparar estos valores con lo reportado en la literatura, se observa que el Laurinterol ha mostrado actividad citotóxica sobre diversas líneas celulares tumorales. Por ejemplo, Kim y Kim (2008) reportaron un IC_{50} de 13.05 $\mu\text{g/mL}$ del Laurinterol aislado de *L. okamurai* en células de melanoma murino B16F1, y García Davis *et al.*, (2019) encontraron un valor CI_{50} de 16.07 $\mu\text{g/mL}$

aislado de *L. johnstonii* en células MCF-7 de cáncer de mama receptor positivo, similar al obtenido en este estudio. Asimismo, Monteiro *et al.*, (2023) reportaron un CI_{50} de 9.23 $\mu\text{g/mL}$ de una fracción de acetato de etilo de *L. obtusa* en células AGS de adenocarcinoma gástrico, sugiriendo que el Laurinterol tiene efecto sobre diferentes tipos de células a concentraciones similares.

Por otro lado, el valor de CI_{50} en células Vero fue de 15.68 $\mu\text{g/mL}$ (García Davis *et al.*, 2019), lo cual es cercano al valor hallado para células HUVEC. Esto destaca la importancia de evaluar el efecto sobre la viabilidad del compuesto en modelos no tumorales para determinar su ventana terapéutica.

Cabe destacar que, si bien la diferencia entre los valores de CI_{50} para MDA-MB-231 y HUVEC es modesta, los porcentajes obtenidos de viabilidad a concentraciones superiores (20 y 30 $\mu\text{g/mL}$) evidencian un efecto drásticamente más pronunciado en las células tumorales. A 30 $\mu\text{g/mL}$, la viabilidad en MDA-MB-231 se redujo a $1.54 \pm 0.91 \%$, en comparación con $5.56 \pm 0.18 \%$ en HUVEC, lo cual podría estar relacionado con un mayor índice proliferativo de las células cancerosas, que suelen ser más susceptibles a agentes que interfieren con el metabolismo celular.

Se evaluó el efecto del Laurinterol sobre la proliferación de células MDA-MB-231 mediante el ensayo de formación de colonias durante 11 días. Los resultados mostraron que el tratamiento con la concentración CI_{20} e CI_{50} del compuesto no produjo diferencias significativas en el número de colonias formadas en comparación con el control no tratado. Estos hallazgos sugieren que el Laurinterol no ejerce un efecto antiproliferativo a largo plazo en esta línea celular de cáncer de mama triple negativo.

En el ensayo de *wound-healing*, se observó una disminución significativa de la capacidad migratoria a partir de las 24 h en el grupo tratado con la CI_{20} , manteniéndose este efecto a las 48 h. Es importante resaltar que el aumento de la concentración a CI_{50} no produjo una mayor reducción del cierre de herida, lo cual sugiere que la CI_{20} corresponde a la concentración máxima efectiva en términos de inhibición migratoria. Este comportamiento indica un posible efecto de saturación del compuesto sobre las rutas asociadas a la motilidad celular. Asimismo, en el ensayo de invasión tipo *Transwell*, el tratamiento con la IC_{20} y la IC_{50} redujo la invasión celular en un 22.7 % y 38.7 %, respectivamente, en comparación con el control, confirmando un efecto dosis-dependiente en este proceso. La reducción en la capacidad invasiva sugiere que el Laurinterol

podría interferir con mecanismos moleculares implicados en degradación de matriz extracelular y adhesión celular. Estos resultados fueron estadísticamente significativos ($p < 0.0001$), lo cual sugiere un efecto dosis-dependiente del Laurinterol en la capacidad invasiva de estas células tumorales altamente metastásicas.

Estos hallazgos son consistentes con estudios previos que han demostrado actividades anti-metastásicas de metabolitos naturales, tanto de origen marino como terrestre. Por ejemplo, la isoalantolactona inhibió la migración e invasión en células MDA-MB-231 mediante la supresión de p38 MAPK y NF- κ B, así como la disminución de MMP-2/MMP-9 (Wang *et al.*, 2016). La vía p38 MAPK es un mediador crítico en la respuesta celular al estrés y se ha asociado con la promoción de la invasión tumoral, mientras que NF- κ B es un factor de transcripción clave involucrado en inflamación, supervivencia celular y regulación de genes promotores de metástasis. Por su parte, las metaloproteinasas MMP-2 y MMP-9 son enzimas que degradan componentes de la matriz extracelular, facilitando la migración e invasión celular; su sobreexpresión se asocia con fenotipos altamente metastásicos en cáncer de mama triple negativo.

De forma similar, el xanthorrhizol mostró efectos anti-migratorios e inhibición de MMP-2 y MMP-9 vía supresión de NF- κ B en células MDA-MB-231 (Al-Amin *et al.*, 2024), reforzando la relevancia de esta vía en la regulación de la plasticidad invasiva y en la progresión tumoral.

En cuanto a compuestos marinos, el sipholenol A disminuyó la migración e invasión a través de la inhibición de Brk, PTK6 y FAK (Akl *et al.*, 2014). Brk y PTK6 son tirosina-quinazas no receptoras asociadas con la motilidad, resistencia a quimioterapia y crecimiento tumoral, mientras que FAK es una proteína central en el control de adhesión focal y dinámica del citoesqueleto, desempeñando un papel esencial en la migración celular y en la formación de metástasis.

En el análisis *in silico*, el Laurinterol mostró afinidad de unión tanto hacia la Topoisomerasa II α como hacia el complejo p53-MDM2, con valores de energía de acoplamiento de -5.951 ± 0.369 y -5.614 ± 0.327 kcal/mol, respectivamente. Estos valores sugieren interacciones estables entre el compuesto y los sitios activos de ambas proteínas. Además, los valores de RMSD (< 2.0 Å) indican estabilidad conformacional en los complejos formados, lo cual respalda la posibilidad de interacción fisiológico-estructural.

En el caso de Topoisomerasa II α , el Laurinterol mostró interacciones hidrofóbicas relevantes con residuos como Ser464, Asp541, Gly617, Lys614 y Tyr805, así como un puente de hidrógeno con Ser464. La Topoisomerasa II α es una enzima clave en el mantenimiento de la estructura del ADN, participando en procesos de replicación, transcripción y reparación. La inhibición de esta proteína ha sido ampliamente descrita como una estrategia terapéutica para bloquear la proliferación celular y promover la muerte celular en cáncer.

Respecto al complejo p53–MDM2, el Laurinterol presentó interacciones hidrofóbicas con Ile61, Leu57, Val93, Leu54 y Glu85, así como un puente de hidrógeno con Ile99. Este hallazgo es relevante debido a que la inhibición de MDM2 favorece la estabilización y actividad de p53, un regulador maestro de apoptosis, reparación de ADN y control del ciclo celular.

Estos resultados son consistentes con lo reportado por Singh *et al.*, (2023), quienes identificaron moléculas bioactivas capaces de unirse tanto a Topoisomerasa II α como al complejo p53–MDM2 en modelos de cáncer triple negativo, proponiéndolas como moduladores duales con potencial antitumoral. Dentro de estos compuestos destaca el resveratrol, un polifenol natural ampliamente estudiado por su capacidad para estabilizar p53, modular Topoisomerasas e inducir respuestas apoptóticas y anti-metastásicas, lo que lo posiciona como un referente en la búsqueda de agentes multitarget derivados de productos naturales. De forma similar, el Laurinterol podría actuar mediante mecanismos independientes del control proliferativo clásico y enfocados preferentemente en la regulación de vías asociadas con metástasis y supervivencia celular, lo que coincide con el efecto observado sobre migración e invasión en este estudio.

11-. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que el Laurinterol presenta una actividad selectiva sobre los procesos de migración e invasión celular en la línea MDA-MB-231, sin afectar de manera significativa la proliferación. Por el contrario, tanto en el ensayo de *wound-healing* como en el de *Transwell*, Laurinterol redujo de manera marcada la capacidad migratoria e invasiva de las células, siendo la IC₂₀ la concentración máxima efectiva para inhibir migración, y con reducciones en la invasión de 22.7 % y 38.7 % respecto al control.

Estos resultados experimentales se complementan con los análisis de acoplamiento molecular, en los cuales el Laurinterol mostró afinidad significativa hacia proteínas clave asociadas a la metástasis, como Topoisomerasa II α y p53–MDM2. En conjunto, estos hallazgos sugieren que el efecto principal del Laurinterol en células MDA-MB-231 está dirigido a los mecanismos de motilidad e invasión, más que a la proliferación, apoyando su potencial como candidato anti-metastásico.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Akl, M. R., Foudah, A. I., Ebrahim, H. Y., Meyer, S. A., & Sayed, K. A. E. (2014). The Marine-Derived Siphonolol A-4-O-3',4'-Dichlorobenzoate Inhibits Breast Cancer Growth and Motility in Vitro and in Vivo through the Suppression of Brk and FAK Signaling. *Marine Drugs*, 12(4), 2282-2304. <https://doi.org/10.3390/md12042282>
- Al-Amin, M., Fazalul Rahiman, S. S., Khairuddean, M., & Muhamad Salhimi, S. (2024). (R)-(-)-Xanthorrhizol Inhibits the Migration and Invasion of Triple-Negative Breast Cancer Cells by Suppressing Matrix Metalloproteinases via the NF-κB Signaling Pathway. *Planta medica*, 90(10), 785–791. <https://doi.org/10.1055/a-2339-2633>
- Alves, C., & Diederich, M. 2021. Marine Natural Products as Anticancer Agents. *Marine drugs*, 19(8), 447. <https://doi.org/10.3390/md19080447>. [Online]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8398653/>
- Alves, C., & Diederich, M. 2023. Marine Natural Products as Anticancer Agents 2.0. *Marine drugs*, 21(4), 247. <https://doi.org/10.3390/md21040247>. [Online]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10143642/>
- American Cancer Society. 2022. Tratamiento contra cáncer de seno triple negativo. [Online]. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/cancer-de-seno/tratamiento/tratamiento-de-triple-negativo.html>
- American Cancer Society. 2023. Cáncer de seno triple negativo. [Online]. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/cancer-de-seno/acerca/tipos-de-cancer-de-seno/triple-negativo.html>
- Arberas-Jiménez, I., García-Davis, S., Rizo-Liendo, A., Sifaoui, I., Reyes-Batlle, M., Chiboub, O., Rodríguez-Expósito, R. L., Díaz-Marrero, A. R., Piñero, J. E., Fernández, J. J., & Lorenzo-Morales, J. 2020. Laurinterol from *Laurencia johnstonii* eliminates *Naegleria fowleri* triggering PCD by inhibition of ATPases. *Scientific reports*, 10(1), 17731. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74729-y>. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33082417/>
- Arberas-Jiménez, I., García-Davis, S., Rizo-Liendo, A., Sifaoui, I., Morales, E. Q., Piñero, J. E., Lorenzo-Morales, J., Díaz-Marrero, A. R., & Fernández, J. J. 2022. Cyclolauranes as plausible chemical scaffold against *Naegleria fowleri*. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 149, 112816.

- <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112816>. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35286966/>
- Barzaman, K., Karami, J., Zarei, Z., Hosseinzadeh, A., Kazemi, M. H., Moradi-Kalbolandi, S., Safari, E., & Farahmand, L. 2020. Breast cancer: Biology, biomarkers, and treatments. *International immunopharmacology*, 84, 106535. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106535>. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32361569/>
 - Carroll, AR; Copp, BR; Davis, RA; Keyzers, RA; Prinsep, MR. 2020. Productos naturales marinos. *Nat. Pinchar. Representante*, 37 , 175–223.
 - Castaño, Z., Tracy, K., & McAllister, S. S. 2011. The tumor macroenvironment and systemic regulation of breast cancer progression. *The International journal of developmental biology*, 55(7-9), 889–897. <https://doi.org/10.1387/ijdb.113366zc> [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22161844/>
 - CDC. 2023. Grupo de trabajo de estadísticas sobre el cáncer de EE. UU. Herramienta de visualización de datos de estadísticas sobre el cáncer de EE. UU., basada en datos presentados en 2022 (1999-2020): Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU., Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades y el Instituto Nacional del Cáncer. [Online]. Disponible en <https://www.cdc.gov/spanish/cancer/breast/statistics/>
 - CDC. 2023. ¿Qué es el cáncer de mama?. Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU., Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades y el Instituto Nacional del Cáncer. [Online]. Disponible en: https://www.cdc.gov/spanish/cancer/breast/basic_info/what-is-breast-cancer.htm
 - Charoensiddhi, S., Abraham, R. E., Su, P., & Zhang, W. 2020. Seaweed and seaweed-derived metabolites as prebiotics. *Advances in food and nutrition research*, 91, 97–156. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.10.001>. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32035602/>
 - CONABIO. 2019. Diccionario de datos. Ejemplares publicados en el Geoportal del Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad, EncicloVida. [Online]. Disponible en: <https://enciclovida.mx/especies/10575-laurencia-johnstonii>
 - Cuesta, J. E; González, A; Serra, C; González, L. O; Merino, A. M; García Muñiz, J. L; Vizoso, F. 2001. Carcinoma mucinoso de la mama: características clínicas, biológicas y

pronósticas en comparación con las del ductal infiltrante de tipo clásico. *Rev. senol. patol. mamar*, 14(3):107-114. [Online]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-senologia-patologia-mamaria--131-articulo-carcinoma-mucinoso-mama-caracteristicas-clinicas-13019969>

- Ferreira, B. A., Moura, F. B. R., Cassimiro, I. S., Londero, V. S., Gonçalves, M. M., Lago, J. H. G., & Araújo, F. A. 2024. Costic acid, a sesquiterpene from *Nectandra barbellata* (Lauraceae), attenuates sponge implant-induced inflammation, angiogenesis and collagen deposition in vivo. *Fitoterapia*, 175, 105939. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2024.105939>. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38570096/>
- Ferreira, B. A., Silva, R. F., de Moura, F. B. R., Narduchi, C. T., Deconte, S. R., Sartorelli, P., Tomiosso, T. C., Lago, J. H. G., & Araújo, F. A. 2022. α -zingiberene, a sesquiterpene from essential oil from leaves of *Casearia sylvestris*, suppresses inflammatory angiogenesis and stimulates collagen deposition in subcutaneous implants in mice. *Natural product research*, 36(22), 5858–5862. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.2019729>. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34961386/>
- García-Davis, S., Leal-López, K., Molina-Torres, C. A., Vera-Cabrera, L., Díaz-Marrero, A. R., Fernández, J. J., Carranza-Rosales, P., & Viveros-Valdez, E. 2020. Antimycobacterial Activity of Laurinterol and Aplysin from *Laurencia johnstonii*. *Marine drugs*, 18(6), 287. <https://doi.org/10.3390/md18060287>. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32486286>
- García-Davis, S., López-Arencibia, A., Bethencourt-Estrella, C. J., San Nicolás-Hernández, D., Viveros-Valdez, E., Díaz-Marrero, A. R., Fernández, J. J., Lorenzo-Morales, J., & Piñero, J. E. 2023. Laurequinone, a Lead Compound against Leishmania. *Marine drugs*, 21(6), 333. <https://doi.org/10.3390/md21060333>. [Online]. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1660-3397/21/6/333>
- García-Davis, S., Viveros-Valdez, E., Díaz-Marrero, A. R., Fernández, J. J., Valencia-Mercado, D., Esquivel-Hernández, O., Carranza-Rosales, P., Carranza-Torres, I. E., & Guzmán-Delgado, N. E. 2019. Antitumoral Effect of Laurinterol on 3D Culture of Breast Cancer Explants. *Marine drugs*, 17(4), 201. <https://doi.org/10.3390/md17040201>. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30934912/>

- Gordillo, Blanca, Arrieche, Gabriel, Pérez, Yamilet, Barrientos, Venancio, Acosta, Rafael, & Medina, Maiker. 2010. Carcinoma medular de la mama comportamiento clínico terapéutico. *Revista Venezolana de Oncología*, 22(4), 232-236. [Online]. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-05822010000400004&lng=es&tlng=es.
- Gutiérrez-Rodríguez, A. G., Juárez-Portilla, C., Olivares-Bañuelos, T., & Zepeda, R. C. 2018. Anticancer activity of seaweeds. *Drug discovery today*, 23(2), 434–447. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.10.019>. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29107095/>
- 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> [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21376230/>
- Harizani, M., Ioannou, E., & Roussis, V. 2016. The *Laurencia Paradox*: An Endless Source of Chemodiversity. *Progress in the chemistry of organic natural products*, 102, 91–252. https://doi.org/10.1007/978-3-319-33172-0_2. [Online]. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-33172-0_2
- Hu, YW; Chen, JH; Yu, JC; Zhu, X.; Lin, YC; Chen, SP; Yuan, J. 2015. Investigación estadística sobre la bioactividad de nuevos productos naturales marinos descubiertos durante los 28 años comprendidos entre 1985 y 2012. *Mar. Drugs*, 13 , 202–221.
- Irie, T., Suzuki, M., Kurosawa, E., & Masamune, T. (1966). Laurinterol and debromolaurinterol, constituents from *Laurencia intermedia*. *Tetrahedron Letters*, 7(17), 1837–1840. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)90267-3](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)90267-3)
- Ishii Takahiro, Nagamine Takumi, Quan Nguyaen Binh Cao y Tawata Shinkichi. (2017). Insecticidal and repellent activities of laurinterol from the Okinawan red alga *Laurencia nidifica*. *Rec. Nat. Prod.* 11:1 , 63-68. Recuperado de: <https://www.acgpubs.org/RNP/2017/Volume11/Issue%2019-RNP-1604-365-SI.pdf>
- Justus, C. R., Leffler, N., Ruiz-Echevarria, M., & Yang, L. V. 2014. *In vitro* cell migration and invasion assays. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (88), 51046. <https://doi.org/10.3791/51046> [Online]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4186330/>

- Kamada, T., & Vairappan, C. S. 2017. Non-halogenated new sesquiterpenes from Bornean *Laurencia snackeyi*. Natural product research, 31(3), 333–340. <https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1241996>. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27707003/>
- Kanoujia, J., Das, A., Raina, N., Kaur, G., Singh, S. K., Tuli, H. S., Garg, A., & Gupta, M. 2023. Recent advances in BCRP-induced breast cancer resistance treatment with marine-based natural products. IUBMB life, 75(11), 896–910. <https://doi.org/10.1002/iub.2764>. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37439402/>
- Kim, M. M., Mendis, E., & Kim, S. K. 2008. *Laurencia okamurai* extract containing laurinterol induces apoptosis in melanoma cells. Journal of medicinal food, 11(2), 260–266. <https://doi.org/10.1089/jmf.2007.575>. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18598167/>
- Kim M. Y. 2021. Breast Cancer Metastasis. Advances in experimental medicine and biology, 1187, 183–204. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9620-6_9. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33983579/>
- Marine Pharmacology. 2025. Medicamentos marinos aprobados. [Online]. Disponible en: <https://www.marinepharmacology.org/approved>
- Martín-Lescane Julie, Rousseau Florence, De Reviers Bruno, Payri Claude, Couloux Arnaud, Cruaud Corinne & Le Gall Line. 2010. Los análisis filogenéticos de *Laurencia* (Rhodomelaceae, Ceramiales) apoyan el reconocimiento de cinco géneros: *Chondrophycus*, *Laurencia*, *Osmundea*, *Palisaday* Yuzuruastat. Nov., Revista europea de fisiología, 45:1, 51-61, DOI: 10.1080/09670260903314292. [Online]. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09670260903314292>
- Molckovsky, A., Fitzgerald, B., Freedman, O., Heisey, R., & Clemons, M. 2009. Approach to inflammatory breast cancer. Canadian family physician Medecin de famille canadien, 55(1), 25–31. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19155362/>
- Monteiro, J. R. B., Rodrigues, R. P., Mazzuco, A. C., de Cassia Ribeiro Gonçalves, R., Bernardino, A. F., Kuster, R. M., & Kitagawa, R. R. 2023. *In Vitro* and *In Silico* Evaluation of Red Algae *Laurencia obtusa* Anticancer Activity. Marine drugs, 21(6), 318. <https://doi.org/10.3390/md21060318> [Online]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10301910/>

- Naeem, A., Hu, P., Yang, M., Zhang, J., Liu, Y., Zhu, W., & Zheng, Q. 2022. Natural Products as Anticancer Agents: Current Status and Future Perspectives. *Molecules* (Basel, Switzerland), 27(23), 8367. <https://doi.org/10.3390/molecules27238367>. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36500466/>
- NEGI. 2023. ESTADÍSTICAS A PROPÓSITO DEL DÍA MUNDIAL CONTRA EL CÁNCER. COMUNICADO DE PRENSA NÚM. 77/23. MÉXICO. PÁGINA 1-6.
- Nishida, N., Yano, H., Nishida, T., Kamura, T., & Kojiro, M. 2006. Angiogenesis in cancer. *Vascular health and risk management*, 2(3), 213–219. <https://doi.org/10.2147/vhrm.2006.2.3.213>. [Online]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1993983/>
- Quirós Alpízar, José Luis y Espinoza Morales, Karla. 2017. Supervivencia a 5 años de pacientes con cáncer de mama triple negativo. *Medicina Legal de Costa Rica*, 34 (1), 59-72. [Online]. Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152017000100059
- Singh, V., Verma, S., Fatima, F., Samanta, S. K., Varadwaj, P. K., & Sahoo, A. K. (2023). In Silico Study of a Small Bioactive Molecule Targeting Topoisomerase II and P53-MDM2 Complex in Triple-Negative Breast Cancer. *ACS omega*, 8(41), 38025–38037. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c03640>
- Su H., Shi, D. Y., Li, J., Guo, S. J., Li, L. L., Yuan, Z. H., & Zhu, X. B. 2009. Sesquiterpenes from *Laurencia similis*. *Molecules* (Basel, Switzerland), 14(5), 1889–1897. <https://doi.org/10.3390/molecules14051889>. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19471208/>
- Suhail, Y., Cain, M. P., Vanaja, K., Kurywchak, P. A., Levchenko, A., Kalluri, R., & Kshitiz 2019. Systems Biology of Cancer Metastasis. *Cell systems*, 9(2), 109–127. <https://doi.org/10.1016/j.cels.2019.07.003>. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31465728/>
- Sun, J., Shi, D., Ma, M., Li, S., Wang, S., Han, L., Yang, Y., Fan, X., Shi, J., & He, L. 2005. Sesquiterpenes from the red alga *Laurencia tristicha*. *Journal of natural products*, 68(6), 915–919. <https://doi.org/10.1021/np050096g>. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15974618/>

- Vicente, T. F. L., Félix, C., Félix, R., Valentão, P., & Lemos, M. F. L. 2022. Seaweed as a Natural Source against Phytopathogenic Bacteria. *Marine drugs*, 21(1), 23. <https://doi.org/10.3390/md21010023>. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36662196/>
- Wang, J., Cui, L., Feng, L., Zhang, Z., Song, J., Liu, D., & Jia, X. (2016). Isoalantolactone inhibits the migration and invasion of human breast cancer MDA-MB-231 cells via suppression of the p38 MAPK/NF-κB signaling pathway. *Oncology Reports*, 36, 1269-1276. <https://doi.org/10.3892/or.2016.4954>
- Yang, S., Xiao, Z., Lin, L., Tang, Y., Hong, P., Sun, S., Zhou, C., & Qian, Z. J. 2021. Mechanism Analysis of Antiangiogenic d-Isofloridoside from Marine Edible Red algae *Laurencia undulata* in HUVEC and HT1080 cell. *Journal of agricultural and food chemistry*, 69(46), 13787–13795. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c05007> . [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34767715/>
- Zaharia, M., & Gómez, H. 2013. Cáncer de mama triple negativo: una enfermedad de difícil diagnóstico y tratamiento. *Revista peruana de medicina experimental y salud publica*, 30(4), 649–656. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24448944/>
- Zhou Q, Hotta K, Deng Y, Yuan R, Quan S, Chen X. 2021. Advances in Biosynthesis of Natural Products from Marine Microorganisms. *Microorganisms*. 2021 Dec 10;9(12):2551. doi: 10.3390/microorganisms9122551. [Online]. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-2607/9/12/2551>
- Zhu, S., Wu, Y., Song, B., Yi, M., Yan, Y., Mei, Q., & Wu, K. 2023. Recent advances in targeted strategies for triple-negative breast cancer. *Journal of hematology & oncology*, 16(1), 100. <https://doi.org/10.1186/s13045-023-01497-3>. [Online]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37641116/>