

Efecto antineoplásico de flavonoides de *Bupleurum frutescens* en cáncer de próstata.

José Casas-Martín^{1, a}, Lucia Real¹, Alejandro García-Nafría¹, Cristina Martínez-Toledo¹, Leire Fernández-Crippa², Ignacio Antona-Palacios², Elena Vuelta², Ignacio García-Tuñón^{2, 3}, Miguel Ángel Ortega^{3, 4}, Mar Royuela^{2, 3}, Cristina Coscolín¹

1. Inari Biotech SL. 2. Dpto. Biomedicina y Biotecnología UAH. 3. IRICYS grupo de Ingeniería Tisular y Medicina Regenerativa. 4. Dpto. Medicina y Especialidades Médicas UAH.

a. inaribiotech@gmail.com

XI Congreso de Señalización Celular, SECUAH 2026.

XX Simposio de Dianas Terapéuticas.

16 a 18 de marzo, 2026. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares, Madrid. España.

Palabras clave: cáncer de próstata; *Bupleurum frutescens*; flavonoides; HAT1; epigenética

Resumen

El cáncer de próstata avanzado representa un reto terapéutico importante, especialmente en su forma hormono-resistente, para la cual las opciones de tratamiento son limitadas y la supervivencia es reducida. En este contexto, la identificación de compuestos bioactivos capaces de modular rutas celulares clave implicadas en la supervivencia, proliferación y progresión tumoral constituye una estrategia de gran interés. Los productos naturales de origen vegetal han demostrado ser una fuente relevante de moléculas con actividad antineoplásica. Entre ellos, el género *Bupleurum* ha sido ampliamente utilizado en medicina tradicional y contiene diversos compuestos con propiedades antiinflamatorias, inmunomoduladoras y antiproliferativas. Sin embargo, el potencial antitumoral de *Bupleurum frutescens* y, en particular, de sus flavonoides, ha sido poco explorado en modelos de cáncer de próstata. En este trabajo se evaluó la actividad antineoplásica de extractos obtenidos de la parte aérea de *Bupleurum frutescens* sobre distintos modelos celulares de cáncer de próstata, incluyendo líneas hormono-dependientes y hormono-resistentes. Los resultados muestran que el extracto butanólico presenta una actividad inhibidora significativa de la viabilidad celular, especialmente en células hormono-resistentes. El fraccionamiento del extracto permitió identificar una fracción enriquecida en flavonoides (FLV) como principal responsable de dicha actividad. El tratamiento con la fracción FLV indujo una reducción de la viabilidad celular, una parada del ciclo celular en la fase G2/M y alteraciones en proteínas implicadas en rutas de señalización asociadas a supervivencia celular, adhesión y respuesta al estrés. El análisis integrado de microarrays proteicos, Western blot y citometría de flujo sugiere una modulación diferencial de las rutas PYK2/FAK/AKT y de procesos relacionados con autofagia, particularmente en células hormono-resistentes. De forma destacada, se observó una disminución marcada de los niveles de HAT1 en células PC3, lo que apunta a una posible implicación de mecanismos epigenéticos en la respuesta al tratamiento. En conjunto, estos resultados indican que los flavonoides de *Bupleurum frutescens* ejercen un efecto antineoplásico relevante en modelos celulares de cáncer de próstata, especialmente en contextos de resistencia hormonal, y sugieren que la modulación de rutas de señalización y de reguladores epigenéticos como HAT1 podría contribuir a su mecanismo de acción.

Cita: Casas-Martín, José; Real, Lucia; García-Nafría, Alejandro; Martínez-Toledo, Cristina; Fernández-Crippa, Leire; Antona-Palacios, Ignacio; Vuelta, Elena; García-Tuñón, Ignacio; Ortega, Miguel Ángel; Royuela, Mar; Coscolín, Cristina (2026) Efecto antineoplásico de flavonoides de *Bupleurum frutescens* en cáncer de próstata. Actas del XI Congreso de Señalización Celular, SECUAH 2026. XX Simposio de Dianas Terapéuticas. 16 a 18 de marzo, 2026. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares, Madrid. España. *dianas* 15 (1): e202603fp002. ISSN 1886-8746 (electronic) journal.dianas.e202603fp002 <https://dianas.web.uah.es/journal/e202603fp002>. URI <http://hdl.handle.net/10017/15181>

Copyright: © Casas-Martín J, Real L, García-Nafría A, Martínez-Toledo C, Fernández-Crippa L, Antona-Palacios I, Vuelta E, García-Tuñón I, Ortega M, Royuela M, Coscolín C. Algunos derechos reservados. Este es un artículo open-access distribuido bajo los términos de una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Introducción

El cáncer de próstata es una de las neoplasias malignas más frecuentes en varones y una de las principales causas de mortalidad asociada a cáncer en los países desarrollados [1,2]. Aunque las terapias basadas en la supresión androgénica resultan eficaces en fases iniciales de la enfermedad, la progresión hacia formas hormono-resistentes representa un punto crítico en la evolución clínica, caracterizado por una elevada agresividad tumoral, resistencia a los tratamientos convencionales y un pronóstico desfavorable [2]. Esta transición está asociada a la activación de rutas de señalización alternativas que permiten a las células tumorales mantener su supervivencia y proliferación de forma independiente de los andrógenos [3].

La ausencia de terapias curativas eficaces para el cáncer de próstata hormono-resistente ha impulsado la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas dirigidas a dianas moleculares implicadas en la progresión

tumoral, la resistencia a la apoptosis y la plasticidad celular [1]. En este contexto, los productos naturales han adquirido un papel relevante como fuente de compuestos bioactivos con potencial antineoplásico. Numerosos fármacos empleados actualmente en oncología derivan directa o indirectamente de metabolitos secundarios de plantas, microorganismos o productos marinos.

El género *Bupleurum* (familia *Apiaceae*) ha sido utilizado durante siglos en la medicina tradicional asiática y europea, y se caracteriza por la presencia de diversos compuestos con actividad biológica, entre los que destacan saponinas triterpénicas, flavonoides, lignanos y aceites esenciales [4]. Aunque la mayoría de los estudios se han centrado en las saikosaponinas, diversos trabajos han puesto de manifiesto que otros componentes, como los flavonoides, pueden desempeñar un papel relevante en la modulación de procesos celulares asociados a inflamación, proliferación y supervivencia tumoral [4,5]. En particular, algunos compuestos aislados de especies del género *Bupleurum* han mostrado capacidad para interferir con rutas de señalización implicadas en la progresión tumoral, lo que sugiere la existencia de mecanismos de acción complejos y multifactoriales [5].

A nivel celular, la progresión del cáncer de próstata implica la alteración coordinada de múltiples rutas de señalización, incluyendo aquellas relacionadas con quinasas de adhesión focal, supervivencia celular, control del ciclo celular y respuesta al estrés [6]. Entre estas, la vía PYK2/FAK y su interconexión con receptores tirosina-quinasa y con AKT desempeñan un papel relevante en la migración, invasión y resistencia terapéutica [7-9]. Asimismo, procesos como la autofagia y la regulación epigenética emergen como mecanismos clave en la adaptación tumoral a condiciones adversas y tratamientos antineoplásicos [10].

Reguladores epigenéticos como la histona acetil-transferasa 1 (HAT1) han comenzado a ser reconocidos como moduladores de la progresión tumoral, al participar en el ensamblaje de la cromatina y en el control del ciclo celular [11,12]. Aunque su papel en cáncer de próstata no está completamente caracterizado, la evidencia disponible sugiere que alteraciones en la expresión o actividad de HAT1 pueden influir en la proliferación y supervivencia de células tumorales, especialmente en contextos de alta agresividad [11-13].

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antineoplásico de extractos de *Bupleurum fruticosens* en modelos celulares de cáncer de próstata, con especial énfasis en la fracción enriquecida en flavonoides, y analizar los mecanismos celulares y moleculares implicados en su actividad, prestando atención a rutas de señalización clave y a posibles alteraciones en reguladores epigenéticos como HAT1.

Materiales y métodos

Las muestras de *Bupleurum fruticosens* fueron recolectadas en la provincia de Guadalajara (España). El material vegetal correspondiente a la parte aérea se secó en condiciones controladas y protegido de la luz. A partir del material pulverizado se realizaron extracciones secuenciales con disolventes de polaridad creciente. El extracto metanólico (AM) y el extracto butanólico (AB) se obtuvieron siguiendo protocolos estandarizados del laboratorio. A partir del extracto butanólico se aislaron distintas subfracciones mediante cromatografía, obteniéndose una fracción enriquecida en flavonoides (FLV), que fue seleccionada para los ensayos biológicos por mostrar la mayor actividad antineoplásica preliminar.

Se emplearon las siguientes líneas celulares humanas: (1) LNCaP de pasajes bajos (LN), un modelo andrógeno-dependiente con fenotipo epitelial; (2) LNCaP de pasajes altos (LV), que tras numerosos pasajes adquieren un fenotipo neuroendocrino y mayor independencia androgénica; y (3) PC3, un modelo andrógeno-independiente (hormono-resistente). En conjunto, se utilizaron modelos representativos de cáncer de próstata hormono-dependiente (LN) y hormono-resistente (LV, PC3). Las células se cultivaron en medio RPMI suplementado con suero fetal bovino, glutamina y antibióticos, en condiciones estándar de incubación.

La viabilidad celular se evaluó mediante ensayos XTT tras 72 horas de tratamiento con los extractos y fracciones a distintas concentraciones. Los resultados se normalizaron respecto a los controles y se analizaron estadísticamente.

Para el análisis proteómico, las alteraciones en rutas de señalización se analizaron mediante microarrays de anticuerpos tras tratamiento con la fracción FLV durante 24 horas. Los resultados más relevantes se validaron mediante Western blot, analizando proteínas clave implicadas en señalización, autofagia y control del ciclo celular.

La distribución del ciclo celular se evaluó mediante citometría de flujo tras tinción con ioduro de propidio, permitiendo identificar poblaciones en las distintas fases del ciclo y eventos de muerte celular.

Resultados

Los extractos obtenidos de la parte aérea de *Bupleurum fruticosens* mostraron una actividad diferencial sobre la viabilidad celular, siendo el extracto butanólico el que presentó un efecto inhibitorio más acusado, especialmente en las líneas celulares hormono-resistentes (LV y PC3). El análisis mediante microscopía de contraste de fases mostró un efecto diferencial de los extractos AM y AB sobre las tres líneas celulares.

Tras 72 h de tratamiento, la línea celular LN presentó un efecto mínimo, mientras que en las células LV y PC3 se observó una reducción de la densidad celular (Fig. 1).

En los ensayos dosis–respuesta, el extracto AB redujo significativamente la viabilidad de las células LN solo a dosis altas (100 y 800 $\mu\text{g/ml}$), sin cambios a 10–50 $\mu\text{g/ml}$. En cambio, las células LV y PC3 fueron más sensibles: ya a 50 $\mu\text{g/ml}$ disminuyó la viabilidad y el IC_{50} se situó en torno a 100 $\mu\text{g/ml}$. En PC3, el efecto se mantuvo estable entre 100 y 800 $\mu\text{g/ml}$.

El extracto AM mostró un patrón distinto. En LN, el efecto fue significativo entre 50 y 600 $\mu\text{g/ml}$, pero desapareció tanto a dosis bajas (10 $\mu\text{g/ml}$) como a dosis muy altas (700–800 $\mu\text{g/ml}$). En LV se observó un comportamiento similar, aunque con mayor intensidad, superándose el IC_{50} a partir de 100 $\mu\text{g/ml}$. En PC3, el efecto fue mayor a 10 $\mu\text{g/ml}$ ($\text{IC}_{50} \sim 50 \mu\text{g/ml}$), mientras que a dosis más altas (100–800 $\mu\text{g/ml}$) la inhibición fue menor.

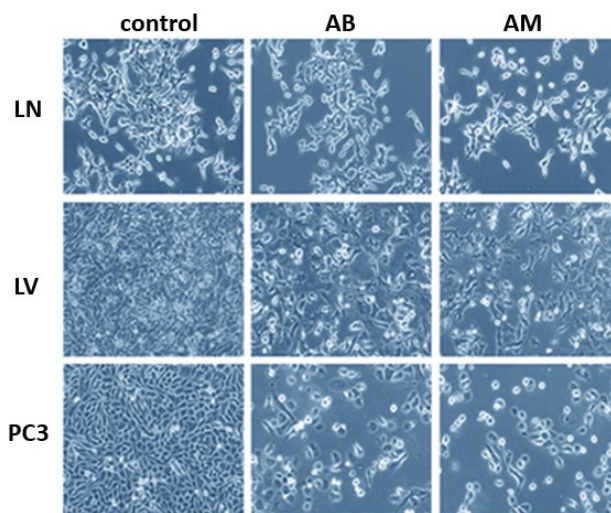


Figura 1: Efecto de los extractos butanólico (AB) y metanólico (AM) de *Bupleurum* a las 72h sobre las células LN, LV y PC3.

El fraccionamiento del extracto permitió identificar la fracción enriquecida en flavonoides como la principal responsable de esta actividad inhibitoria, observándose una reducción significativa de la viabilidad celular en las tres líneas estudiadas, con mayor sensibilidad en LV y PC3 (Fig. 2). Se realizaron ensayos dosis–respuesta con el extracto FLV para identificar la dosis mínima más próxima al IC_{50} (10–450 $\mu\text{g/ml}$). En las células LN se observó una disminución de la viabilidad celular cercana al IC_{50} a concentraciones de 50–200 $\mu\text{g/ml}$, seguida de una recuperación y un aumento del efecto inhibitorio a dosis más altas (250–300 $\mu\text{g/ml}$). Este mismo patrón se observó en las células LV, aunque con una mayor eficacia del extracto, mostrando una inhibición significativa en todo el rango de 50–450 $\mu\text{g/ml}$ y una pérdida casi completa de la viabilidad celular a concentraciones de 400–450 $\mu\text{g/ml}$. En las células PC3, el efecto sobre la viabilidad celular fue más intenso, situándose todas las concentraciones ensayadas por encima del IC_{50} , con la única excepción de 10 $\mu\text{g/ml}$ (Fig. 2). Por tanto, el análisis dosis–respuesta reveló una inhibición dependiente de la concentración, con diferencias en el patrón de respuesta entre las líneas celulares. En particular, las células hormono-resistentes mantuvieron una mayor sensibilidad al tratamiento en un rango amplio de concentraciones.

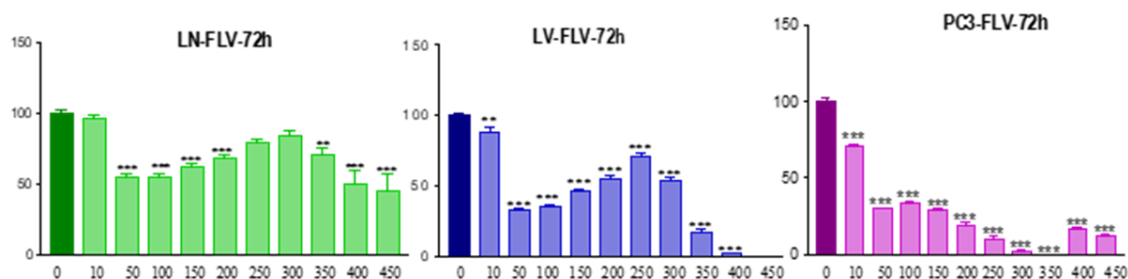


Figura 2: Ensayos dosis respuesta a 72h de la fracción enriquecida en flavonoides sobre las células LN, LV y PC3.

El estudio del ciclo celular mostró que el tratamiento con la fracción FLV induce una parada en la fase G2/M en todas las líneas celulares, más marcada tras exposiciones prolongadas (72h frente a 24h), junto con un incremento de la población subG1, indicativo de muerte celular (Fig.3).

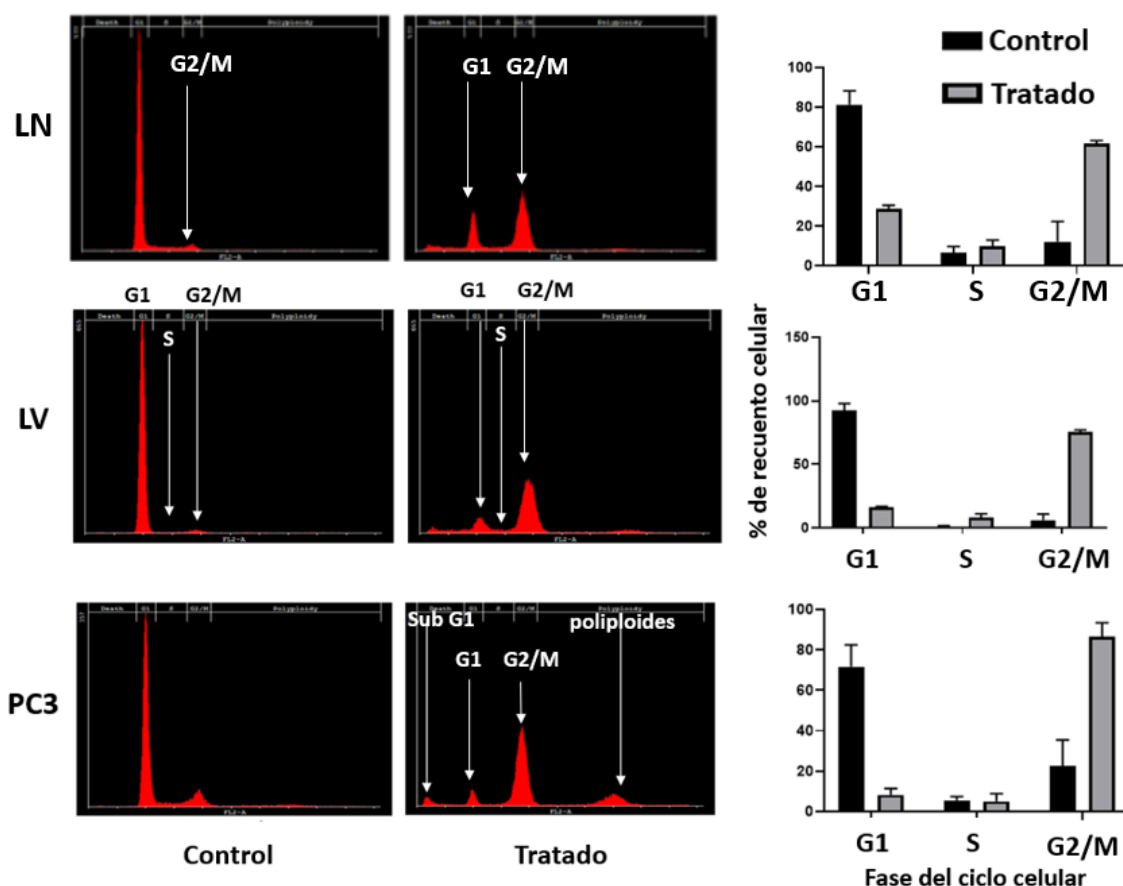


Figura 3: Análisis del ciclo celular mediante citometría de flujo, mostrando las poblaciones Sub G1 (células apoptóticas), G1, S, G2/M y poliploides en células LN, LV y PC3 a las 72hrs del tratamiento.

El análisis proteómico reveló alteraciones en proteínas implicadas en supervivencia, adhesión y señalización celular. En células hormono-resistentes se observaron cambios consistentes en la vía PYK2/FAK/AKT, así como modificaciones en marcadores de autofagia. De forma destacada, en la línea PC3 se detectó una disminución pronunciada de los niveles de HAT1 (Fig. 4), un regulador epigenético implicado en el ensamblaje de la cromatina y el control del ciclo celular [12]. Estas alteraciones se confirmaron mediante Western blot (Fig. 5). Se realizó western blot de la proteína quinasa activada por mitógenos (p38) y su forma fosforilada (p-p38), la proteína tirosina quinasa 2 (PYK2), el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y su forma fosforilada (p-EGFR), el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) y su forma fosforilada (p-HER2), la proteína quinasa B (AKT), y la proteína 1 asociada a microtúbulos de la cadena ligera 3, formas citosólica (LC3-I) y lipidada/autofagosomal (LC3-II).

	LN	LV	PC3
p38 MAPK	1,131	1,158	1,019
p38 MAPK activated (diphosphorylated p38)	0,434	0,560	0,831
Pyk2	1,047	0,889	0,513
Pyk2 Phospho (pY579/580)	1,615	0,174	0,692
FAK (focal adhesion kinase)	1,103	1,200	0,960
FAK phospho (pY397)	1,496	0,750	0,371
FAK Phospho (pY577)	1,509	1,899	1,260
HAT1 (Histone acetyltransferase)	1,383	1,640	0,274
Tryptophane Hydroxylase; Clone:WH-3	1,088	2,005	1,136
Bcl-XL Clone:2H12	2,388	1,894	2,314
Cdc27 Clone:AF3.1	2,561	2,328	1,772

Figura 4: Microarray de proteínas. Las proteínas reprimidas se representan en verde (ratio < 0,5) y las sobreexpresadas en rojo (ratio > 2); las tonalidades intermedias indican cambios graduales.

Los análisis de p38 y PYK2 mostraron una buena concordancia entre los datos obtenidos mediante microarrays (Fig. 4) y los resultados de Western blot (Fig. 5). Los niveles totales de p38 no presentaron variaciones apreciables; sin embargo, su forma fosforilada disminuyó en las células LN y, de forma más moderada, en LV tras 24 h de tratamiento, siendo esta reducción más evidente tras 72 h. Por su parte, los niveles de PYK2 fosforilada aumentaron en LN a las 24 y 72 h, mientras que disminuyeron en LV y PC3, siendo este efecto menos acusado a las 72 h que a las 24 h (Fig. 5).

EGFR, HER2 y AKT se analizaron como componentes clave del sistema de quinasas de la familia Src asociados a PYK2, mientras que LC3 se utilizó como marcador de autofagia. En las células LN se detectó un ligero aumento de los niveles de EGFR y p-EGFR, sin cambios apreciables en HER2 ni en su forma fosforilada. De forma llamativa, la disminución observada en los niveles de p-AKT1/2/3 y de LC3 (tanto LC3-I como LC3-II) indica una alteración en rutas relacionadas con la autofagia.

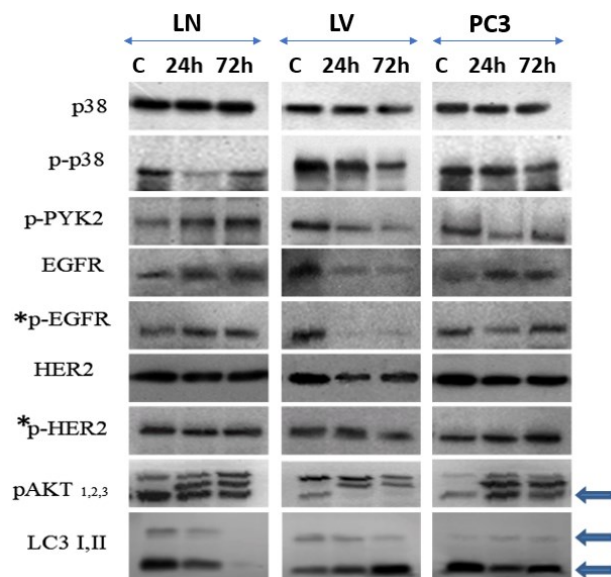


Figura 5: Western blot de p38, PYK2, EGFR, EGFR, HER2, AKT, y LC3 I, II en células LN, LV y PC3 a las 24 y 72 horas de tratamiento (control C).

En las células LV, tanto a las 24 como a las 72 h de tratamiento, se observó una disminución de los niveles de EGFR y p-EGFR, así como de AKT1/2/3, en paralelo a la reducción de p-PYK2. A las 72 h se detectó además una disminución de HER2 y p-HER2. Estos cambios se acompañaron de un aumento de LC3-II y una reducción de LC3-I, consistente con una activación de la autofagia.

En las células PC3 se observó un aumento de los niveles totales de EGFR, junto con una disminución transitoria de p-EGFR a las 24 h, y una reducción de HER2 acompañada de un incremento de p-HER2. En paralelo, los niveles de p-AKT1/2/3 aumentaron, mientras que LC3-II disminuyó y LC3-I mostró un ligero incremento. Cabe destacar que p-AKT1/2/3 presentó, además de la banda esperada de 57 kDa, dos bandas adicionales de aproximadamente 68 y 60 kDa (Fig. 5).

En las tres líneas celulares se observó un aumento de la expresión de BCL-XL y CDC27.

Discusión

Los resultados obtenidos indican que los flavonoides presentes en extractos de *Bupleurum frutescens* ejercen una actividad antineoplásica relevante en modelos celulares de cáncer de próstata, con un efecto particularmente marcado en células hormono-resistentes. Este dato es de especial interés, ya que las formas hormono-resistentes se asocian a mayor agresividad, resistencia terapéutica y peor pronóstico en la clínica [2]. La identificación de la fracción flavonoide como principal responsable de esta actividad sugiere que estos compuestos contribuyen de forma significativa al efecto biológico observado, en concordancia con la evidencia previa sobre el potencial farmacológico del género *Bupleurum* y la actividad biológica de sus metabolitos [4,5].

La modulación de rutas de señalización asociadas a quinasas de adhesión focal, supervivencia celular y autofagia apunta a un mecanismo de acción multifactorial. En este contexto, la alteración de la vía PYK2/FAK/AKT podría explicar, al menos en parte, la reducción de la viabilidad celular y la parada del ciclo observadas, dado el papel de estas quinasas en migración, invasión y fenotipos agresivos en cáncer [7-9]. La activación diferencial de procesos de autofagia en función del tipo celular sugiere además una respuesta adaptativa específica, coherente con el papel descrito de la autofagia en la respuesta tumoral y en la resistencia a terapias antineoplásicas [10].

Un hallazgo especialmente relevante es la disminución de los niveles de HAT1 en células PC3 tras el tratamiento con la fracción flavonoide. Aunque el papel de HAT1 en cáncer de próstata no está completamente definido, su implicación en la regulación epigenética y el control del ciclo celular [12] permite plantear la hipótesis de que la actividad antineoplásica observada podría estar mediada, al menos en parte, por alteraciones en el estado de la cromatina y en la expresión génica. Esta hipótesis debe considerarse con cautela, ya que los datos disponibles no permiten establecer una relación causal directa, pero abre una vía de investigación de interés para futuros estudios.

El análisis de los arrays de anticuerpos mostró un aumento de los niveles de BCL-XL y CDC27. Los datos de la citometría de flujo muestran una parada del ciclo en G2/M y un aumento de la poliploidía en las células tratadas. El incremento de BCL-XL se ha descrito en células poliploides generadas tras un estrés mitótico como un factor de supervivencia que permite que estas células puedan sobrevivir en un estado senescente resistente a la apoptosis [14]. El aumento de CDC27, que forma parte del complejo promotor de la anafase, resulta igualmente paradójico, ya que no es capaz de promover la progresión del ciclo, lo que podría indicar un intento de respuesta compensatoria fallida o una alteración inducida por los flavonoides aguas abajo de la ruta controlada por esta proteína.

En conjunto, este trabajo muestra que los flavonoides de *Bupleurum fruticosum* representan una fuente prometedora de compuestos con actividad antineoplásica frente al cáncer de próstata hormono-resistente. La combinación de efectos sobre viabilidad celular, ciclo celular, señalización y posibles mecanismos epigenéticos refuerza el interés de estos extractos como punto de partida para estudios posteriores orientados a la identificación de nuevas dianas terapéuticas.

Bibliografía

1. Ruch JM, Hussain MH. Envolving therapeutic paradigms for advanced prostate cancer. *Oncology*. 2011;25:496–504.
2. Shepard DR, Raghavan D. Innovations in the systemic therapy of prostate cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2010;7:13–21.
3. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144:646–674.
4. Ashour ML, Wink M. Genus *Bupleurum*: a review of its phytochemistry, pharmacology and modes of action. *J Pharm Pharmacol*. 2011;63:305–321.
5. Bremner P, et al. Phenylpropanoid NF- κ B inhibitors from *Bupleurum fruticosum*. *Planta Med*. 2004;70:914–918.
6. Wagner EF, Nebreda AR. Signal integration by JNK and p38 MAPK pathways in cancer development. *Nat Rev Cancer*. 2009;9:537–549.
7. Schaller MD. Cellular functions of FAK kinases: insight into molecular mechanisms and novel functions. *J Cell Sci*. 2010;123:1007–1013.
8. Iizumi M, et al. RhoC promotes metastasis via activation of the Pyk2 pathway in prostate cancer. *Cancer Res*. 2008;68:7613–7620.
9. Lipinski CA, Loftus JC. The Pyk2 FERM domain: a novel therapeutic target. *Expert Opin Ther Targets*. 2010;14:95–108.
10. Sui X, et al. Autophagy and chemotherapy resistance: a promising therapeutic target for cancer treatment. *Cell Death Dis*. 2013;4:e838.
11. Gibbons RJ. Histone modifying and chromatin remodeling enzymes in cancer and dysplastic syndromes. *Hum Mol Genet*. 2005;14:R85–R92.
12. Ortega MA, De León-Oliva D, García-Montero C, Fraile-Martínez O, Liviu Boaru D, Toledo Lobo MV, García-Tuñón I, Royuela M, García-Hondurilla N, Bujan J, Guijarro LG, Alvarez-Mon M, Alvarez-Mon MA. (2023) Understanding HAT1: a comprehensive review of noncanonical roles and connection with disease. *Genes* 14(4): 915.
13. Bargiela-Cuevas S, Marin M, Gabaldon-Ojeda M, Klett-Mingo JI, Granado P, Sacristan S, Esteban-Lasso A, Casas JG, González V, Royuela M, Martin ME, , García-Tuñón I , Ortega Núñez MA, and Toledo Lobo MV (2024). Histone Acetyl Transferase 1 Is Overexpressed in Poor Prognosis, High-grade Meningeal and Glial Brain Cancers: Immunohistochemical and Aptahistochemical Study. *J Histochem Cytochem* 72(8-9):585-599.
14. Jeong NY, Yoon YG, Rho JH, Lee JS, Lee SY, Yoo KS, Song S, Suh H, Choi YH, Yoo YH (2011). The novel resveratrol analog HS-1793-induced polyploid LNCaP prostate cancer cells are vulnerable to downregulation of Bcl-xL. *Int J Oncol*.38(6):1597-604.