

**ACTIVIDAD ANTIPROLIFERATIVA DE COMPUESTOS QUE INTERFIEREN CON LA FUNCIÓN MITOCONDRIAL. POTENCIAL ANTICANCERÍGENO Y ANTIPARASITARIO**

**UNIDAD EJECUTORA PRINCIPAL DEL RESULTADO:** Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana, La Habana, Cuba.

**AUTORES PRINCIPALES:** DrC. Gilberto L Pardo Andreu<sup>1</sup>, DrC. Javier Marín Prida<sup>1</sup>, DrC. Osmany Cuesta Rubio<sup>2</sup>, DrC. Estael Ochoa Rodríguez<sup>3</sup>, DrC. Yamila Verdecia Reyes<sup>3</sup>, DrC. Rolando Pellón Condom<sup>3</sup>, DrC. Maité Docampo Palacio<sup>3</sup>.

**OTROS AUTORES:** **Instituciones Nacionales:** MC. Roberto Fernández Acosta<sup>1</sup>, DrC. Yanier Nuñez Figueredo<sup>4</sup>. **Institucionales Extranjeras:** DrC. Luciane C Alberici<sup>5</sup>, MC. Felipe HZ dos Reis<sup>5</sup>, DrC. Andreia M Leopoldino<sup>5</sup>, MC. Renata Nishida Goto<sup>5</sup>

1 Centro de Estudio para las Investigaciones y Evaluaciones Biológicas del Instituto de Farmacia y Alimentos de La Universidad de La Habana, Cuba, <sup>2</sup> Facultad de Química y Salud. Universidad Técnica de Machala, Ecuador, <sup>3</sup> Facultad de Química de la Universidad de La Habana, Cuba, <sup>4</sup> Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM), La Habana, Cuba, <sup>5</sup> Departamento de Física-Química, Facultad de Ciencias Farmacéuticas de Ribeirao Preto, Universidad de Sao Paulo, Brasil.

**COLABORADORES**

**Colaboradores Instituciones Nacionales**

- DrC. René delgado Hernández. Instituto de Farmacia y Alimentos.

**Colaboradores Instituciones Extranjeras**

- DrC. Carlos Curti. Universidad de São Paulo, Brasil.
- DrC. Sergio A Uyemura. Universidad de São Paulo. Brasil. DrC. Fernando Postalli. Universidad de São Paulo. Brasil. DrC Valeria G Tudella. Universidad de São Paulo. Brasil. DrC. Cezar R Pestana. Universidad de São Paulo. Brasil. MC Felipe M Dalalio. Universidad de São Paulo. Brasil.
- MC Lays Martin Sobral. Universidad de São Paulo. Brasil. MC. Lucas Oliveira Sousa. Universidad de São Paulo. Brasil.

Paulo. Brasil. DrC. Natalia M. Inada. Universidad de Campinas. Brasil.

- DrC. Anibal E. Vercesi. Universidad de Campinas. Brasil.
- DrC. Mirta L. Fascio. Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- DrC. Norma B. D'Accorso. Universidad de Buenos Aires, Argentina.

### **AUTOR PARA LA CORRESPONDENCIA**

DrC. Gilberto L Pardo Andreu.

Centro de Estudio para las Investigaciones y Evaluaciones Biológicas. Instituto de Farmacia y alimentos de La Universidad de La Habana.

Calle 222, # 2317, entre 23 y 31, La Coronela. La Lisa. CP 13600, La Habana, Cuba. Tel. 72718534.

E-mail: [gpardo@ifal.uh.cu](mailto:gpardo@ifal.uh.cu); [gilbertopardo@infomed.sld.cu](mailto:gilbertopardo@infomed.sld.cu)

### **RESUMEN**

La búsqueda de nuevas entidades químicas, ya sean de origen natural o sintético, con fines citotóxicos, constituye la base del desarrollo de nuevas terapias para el tratamiento algunas de las principales enfermedades que afectan hoy a la humanidad: las infecciones parasitarias en el mundo subdesarrollado, y el cáncer en el mundo occidental. Una molécula citotóxica podría desencadenar mecanismos antiproliferativos que llevaran a la muerte de parásitos unicelulares y de células cancerígenas resistentes a las terapias convencionales. Usualmente se reconoce a la mitocondria como el sitio de producción de energía en estos tipos celulares eucariotas, sin embargo en ella convergen además importantes vías señalizadoras tanto de muerte como de sobrevivencia para la célula, y es por tanto un potencial blanco farmacológico considerado en el diseño de nuevas entidades químicas con potencial citotóxico. La interferencia farmacológica en la función de este orgánulo podría inducir señales pro-apoptóticas que promuevan la muerte tanto de parásitos como de células cancerígenas invasoras refractarios a la quimioterapia. En este contexto la propuesta brinda las evidencias experimentales que confirman al orgánulo como tal por medio del establecimiento de los mecanismos de acción antiproliferativo de un grupo de moléculas naturales y sintéticas. Así, se proponen nuevos derivados sintéticos de acridinona (10-allyl-6-chloro-2-fluoro-9(10H)-acridinone) y del ácido cinámico ((2E)-N-(1,3-benzothiazol-2-yl)-3-(2,5-dimethoxyphenyl)-2-propenamide) capaces de interferir con la función mitocondrial e inhibir la proliferación del *Tripanosoma cruzi*, parásito causante de la enfermedad de Chagas. También se observa por vez primera que el propóleo marrón cubano y sus componentes mayoritarios nemorosona, gutiferona y clusianona inhiben la proliferación de la línea celular de hepatoma humano HepG2 por un mecanismo que involucra el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa de la síntesis de ATP. Por último se proponen nuevos derivados sintéticos dihidropiridínicos (VE-3N\_ethyl 6-chloro-5-formyl-2-methyl-4-(3-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridine-3-carboxylate y VdiE-2N\_ (isobutyryloxy) methyl 6-chloro-5-formyl-1,4-dihydro-2-methyl-4-(2-

nitrophenyl) pyridine-3-carboxylate) también citotóxicos frente a HepG2 cuya acción está mediada por la interferencia de estos en la función mitocondrial. Uno de estos derivados, el VdiE-2N, se mostró particularmente citotóxico frente a las líneas celulares de carcinoma celular escamosos de cabeza y cuello Cal27, HN12, HN13 y HN6 en contraste con un pobre efecto frente a las células no tumorales HEK293 y OHMF. Esta molécula también redujo el volumen tumoral in vivo, en un modelo de xenotrasplante de HN12 en ratones atímicos. **Esta investigación propone nuevas moléculas naturales y sintéticas con acción antiproliferativa frente a T. cruzi y diferente líneas tumorales que basan sus mecanismos de acción en la interferencia con la función mitocondrial. Se propone a la mitocondria como un interesante blanco farmacológico a considerar en la búsqueda de nuevos fármacos antiparasitarios y anticancerígenos.** Este trabajo se encuentra respaldado por 8 publicaciones científicas en revistas internacionales de alto factor de impacto, 3 Patentes, 6 Publicaciones en Resúmenes de eventos, 10 Participaciones en Eventos, 5 Premios y 2 Tesis de Maestría (2014 y 2017).

## **COMUNICACIÓN CORTA**

**Introducción:** Las enfermedades parasitarias y el cáncer, ambas causadas por una no controlada proliferación celular, constituyen serios problemas de salud a nivel mundial. Así por ejemplo, se estima que alrededor de 6 millones de personas están infestadas con el parásito protozoario *Tripanosoma cruzi* [1]. A pesar de ser endémico en 21 países latinoamericanos, ya se observa un incremento en la incidencia o reconocimiento de la enfermedad de Chagas en países desarrollados donde no es endémico debido a migraciones intercontinentales de individuos infestados [2]. Por otra parte el cáncer es una de las principales causas de muerte a nivel mundial. Según el Informe Mundial sobre Cáncer (World Cancer Report), en el año 2008, 25 millones de personas vivían con la enfermedad, y se registraron 7 millones de muertes aproximadamente, lo cual representó un 13% de todas las causas de mortalidad anual [3,4]. En Cuba, el cáncer constituye la segunda causa de muerte, con una tendencia ligeramente creciente. En el año 2015, el 24,2% aproximadamente de todas las defunciones registradas fueron ocasionadas por tumores malignos, con más de 24000 muertes [5]. La quimioterapia continúa siendo un componente principal para el manejo clínico de estas enfermedades, pero con importante limitaciones como la baja eficacia, elevada toxicidad y resistencia a la terapia medicamentosa que mantienen activa la búsqueda de nuevos compuestos. Un número importante de trabajos sugieren a la mitocondria como un potencial blanco farmacológico para inhibir la proliferación de células tumorales y parásitos protozoarios unicelulares [6-12]. Esto se basa en las diferencias que existen entre las mitocondrias de las células malignas y las células normales [13-16], así como las marcadas diferencias de las mitocondrias de los parásitos protozoarios unicelulares [10-12]. Eventos mitocondriales tales como la disipación del potencial de membrana, la generación de especies reactivas de oxígeno, la transición de permeabilidad mitocondrial y la liberación de proteínas activadoras de caspasas están fuertemente implicados en la muerte celular por necrosis y apoptosis [17]. Compuestos suficientemente lipofílicos para atravesar las membranas mitocondriales podrían inducir la muerte celular por mecanismos mitocondriales y detener la proliferación de células malignas y de parásitos protozoarios unicelulares contenedores del orgánulo. **Materiales y Métodos:** En este contexto se evaluaron los efectos citotóxicos y antiproliferativos de 4 moléculas sintéticas noveles (el derivado de acridinona 10-allyl-6-chloro-2-fluoro-9(10H)-acridinone, el derivado de ácido cinámico

(2E)-N-(1,3-benzothiazol-2-yl)-3-(2,5-dimethoxyphenyl)-2-propenamide y los derivados hidropiridínicos ethyl 6-chloro-5-formyl-2-methyl-4-(3-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridine-3-carboxylate y el (isobutyryloxy) methyl 6-chloro-5-formyl-1,4-dihydro-2-methyl-4-(2-nitrophenyl)pyridine-3-carboxylate), 3 moléculas de origen natural (nemorosona, gutiferona-A y clusianona) y el propóleo marrón cubano. Se evaluó la participación potencial de las mitocondrias en estos efectos. Se emplearon cultivos de formas epimastigóticas de *T. cruzi* (cepa Tulahuen) y las líneas celulares de cáncer hepático HepG2, y de carcinoma celular escamosos de cabeza y cuello (HN13, HN12, HN6, CAL27) donde se estudiaron a sus mitocondrias "in situ" (dentro de las células) y mitocondrias aisladas de hígado de ratas para profundizar en los mecanismos mitocondriales de acción. Se empleó además un modelo de xenotrasplante tumoral de la línea HN12 en ratones Balb/c atímicos como prueba de concepto de la actividad antitumoral de una de las dihidropiridinas estudiadas. **Resultados y Discusión: Se propone por primera vez a un derivado del ácido cinámico (CAD-1) y otro derivado de acridinona (AD-1) como nuevos agentes anti-Tripanosoma cruzi con interesante potencial en la quimioterapia de la enfermedad de Chagas [18, 19]. Estas moléculas indujeron la muerte del parásito principalmente por apoptosis.** Sus mecanismos de acción estuvieron vinculados a una disipación del potencial de membrana mitocondrial y un incremento marcado en la generación de especies reactivas de oxígeno probablemente mediado por un efecto inhibitorio en la cadena del transporte de electrones [18,19]. **Se propone a la mitocondria del parásito como un interesante blanco farmacológico en la búsqueda de nueva opciones terapéuticas para combatir la enfermedad de Chagas [18,19].** En otra serie de resultados se muestra que la nemorosona, componente mayoritario del propóleo marrón cubano, disminuye marcadamente la viabilidad de la línea tumoral HepG2 asociado a una reducción de los niveles celulares de ATP. **Se demuestra por primera vez que es un potente desacoplador protonofórico en mitocondrias aisladas,** que actúa en un rango de concentración nanomolar y que su efecto es comparable al de los desacopladores mitocondriales clásicos como el CCCP o el FCCP [20]. Se propone que el efecto mito-tóxico puede explicar los efectos citotóxicos y anticancerígenos de esta benzofenona presente en el propóleo marrón cubano [20]. Se propuso un mecanismo de acción protonofórico que involucra al grupo hidroxilo aromático de la nemorosona [20]. Estudios posteriores muestran que en efecto, este grupo hidroxilo parece ser el responsable del efecto desacoplador. La clusianona, que es un isómero de posición de la nemorosona, es un desacoplador más débil. La formación de un puente de hidrógeno intramolecular compromete la participación de su grupo hidroxilo en la disipación del gradiente de protones en el espacio intermembrana mitocondrial [21]. **No obstante, la molécula conserva su efecto desacoplador del transporte de electrones de la fosforilación oxidativa, acción reportada por vez primera vez. Se propone por primera vez que este efecto deletéreo sobre la función mitocondrial parece contribuir también al efecto citotóxico/antiproliferativo de la clusianona [21].** La gutiferona, otra benzofenona poliprenilada presente en el propóleo marrón también presentó un fuerte efecto desacoplador de la función mitocondrial, pero su mecanismo no fue protonofórico. Se propuso por primera vez un mecanismo de acción mito-tóxico y citotóxico para esta molécula natural relacionado con su capacidad de permeabilizar inespecíficamente la membrana interna mitocondrial [22]. Esto inactiva la transhidrogenasa mitocondrial con una disminución de los niveles de NAD(P)H y el consiguiente incremento de la generación de Especies reactivas de oxígeno como el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que a su vez intensifica el daño sobre el orgánulo [22]. **Se descubre que esta capacidad de interferir con la función mitocondrial puede explicar los**

**efectos citotóxicos y anticancerígenos de esta molécula presente también en el propóleo marrón cubano** [22]. Los efectos citotóxicos y antimicrobianos del propóleo marrón cubano se habían reportado previamente [23,24]. Teniendo en cuenta que las mencionadas moléculas, y en particular la nemorosona, son componentes importantes dentro de este tipo de propóleo, resultó razonable hipotetizar que la citotoxicidad y potencial anticancerígeno del propóleo marrón puede estar asociado a su contenido en nemorosona y que el mecanismo de acción está mediado por la inducción de una disfunción mitocondrial (desacoplamiento) que promueve la muerte celular. En estudios realizados con diferentes tipos de propóleos marrones cubanos se observó un potente efecto citotóxico en células HepG2 (hepatocarcinoma humano), en estrecha relación con sus contenidos en nemorosona [25]. Como era de esperarse, esta citotoxicidad estuvo vinculada con un fuerte efecto desacoplador y disipador del potencial de membrana en mitocondrias aisladas de hígado de ratas, también vinculado al contenido en nemorosona [25]. **En conjunto, estos resultados proponen por vez primera un mecanismo mitocondrial para explicar los efectos citotóxicos, anticancerígenos y antimicrobianos del propóleo marrón cubano, en estrecha vinculación al contenido en nemorosona** [25]. En otra serie de resultados se muestra por primera vez que la dihidropiridina VE-3N también inhibió el crecimiento de la línea HepG2, y el efecto estuvo asociado a una disipación del potencial de membrana mitocondrial, reducción de los niveles celulares de ATP e inducción de apoptosis [26]. Al emplear mitocondrias aisladas como sistema experimental para profundizar en los mecanismos mitocondriales observados a nivel celular se pudo demostrar que la molécula ejerce efectos desacopladores del transporte de electrones [26]. Esto se pudo corroborar por la inducción de un incremento en la velocidad de consumo de oxígeno en estado 4 (V4), una disipación del potencial de membrana, una inhibición de la captación de  $\text{Ca}^{2+}$  y liberación de este una vez captado, e inducción del fenómeno de transición de permeabilidad mitocondrial en presencia de rojo de rutenio [26]. Como en el caso de algunas de las moléculas de origen natural evaluadas, el mecanismo de desacoplamiento de VE-3N fue por efecto protonofórico, aunque también se observó su capacidad de incrementar la fluidez de las membranas mitocondriales, que podría contribuir a un incremento de la permeabilización de la membrana interna y a la disipación del gradiente de protones [26]. También se pudo observar que otra dihidropiridina, el VdiE-2N, similar estructuralmente al VE-3N fue marcadamente citotóxico frente a las líneas de carcinoma celular escamoso de cabeza y cuello HN13, HN12, HN6 y CAL27 [27]. Resulta interesante que su toxicidad fue mucho menor frente a la línea de células embrionarias de riñón humano HEK293 (no tumoral) y frente al cultivo primario de células de mucosa humana (OHMF), lo que sugiere cierta especificidad para las líneas tumorales ensayadas [27]. Esta dihidropiridina ejerció su efecto antiproliferativo por medio de una disipación del potencial de membrana mitocondrial en las células, un incremento del número de estas, relacionado con un incremento en los marcadores de los procesos de fisión del orgánulo y de apoptosis intrínseca (liberación de citocromo c y activación de caspasa 3) [27]. También redujo la expresión de proteínas relacionadas con la migración e invasión celular de la línea metastásica HN12 y los niveles de varias proteínas vinculadas con la sobrevivencia celular como pAKT308, pAKT473, pERK1/2, pNFkB and pSTAT3 y con el ciclo celular (p53 y p21) en la línea HN13 [27]. Por último, se evaluó el efecto de VdiE-2N sobre el potencial tumorigénico de HN12 en un modelo de xenotrasplante en ratones Balb/c atímicos. Esta dihidropiridina redujo el volumen del tumor asociado a una reducción del marcador de proliferación Ki67 [27]. **De esta forma VdiE-2N parece ser**

**selectivamente citotóxico para las líneas de carcinoma celulares escamoso de cabeza y cuello. Su actividad antiproliferativa observada también in vivo parece estar mediada por mecanismos mitocondriales como en el resto de las moléculas previamente analizadas [27]. Conclusiones:** Este trabajo propone un conjunto de moléculas y compuestos de origen natural o sintético que a pesar de su diversidad estructural tienen en común la capacidad de inhibir la proliferación celular, tanto de parásitos unicelulares como de diferentes líneas tumorales, mediante la interferencia en la función mitocondrial. De esta forma se identifica al orgánulo como un importante blanco farmacológico a considerar en la búsqueda de nuevas propuestas quimioterapéuticas frente a la enfermedad de Chagas y el cáncer. Los interesantes resultados obtenidos a nivel pre-clínico, en particular los relacionados con las moléculas sintéticas evaluadas abren nuevas perspectivas para la continuidad de estudios pre-clínicos y clínicos que puedan conducir al desarrollo nuevos medicamentos 100% cubanos frente a estas enfermedades.

## **REFERENCIAS**

- [1] World Health Organization. Sustaining the Drive to Overcome the Global Impact of Neglected Tropical Diseases: Second WHO Report on Neglected Tropical Diseases. 2013.
- [2] Bern C, Montgomery SP. An estimate of the burden of Chagas disease in the United States. *Clin Infect Dis* 2009; **49(5)**: e52–e54.
- [3] Ferlay J, Shin H, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin D. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International Journal of Cancer* 2010, **127**: 2893–2917.
- [4] Boyle P, Levin B. World cancer report. Technical report. World Health Organization. International agency for research on cancer; 2008.
- [5] Bess S, editor. Anuario estadístico de salud 2015. La Habana, Cuba: Ministerio de Salud Pública de Cuba; 2016.
- [6] Ralph SJ, Neuzil J. Mitochondria as targets for cancer therapy. *Mol Nutr Food Res* 2009, **53**: 9–28.
- [7] Ralph SJ, Low P, Dong L, Lawen A, Neuzil J. Mitocans: Mitochondrial targeted anti-cancer drugs as improved therapies and related patent documents. *Recent Pat Anti-Cancer Drug Discov* 2006, **1**: 327–346.
- [8] Neuzil J, Dyason JC, Freeman R, Dong LF, Prochazka L, Wang XF, Scheffler I, Ralph SJ. Mitocans as anti-cancer agents targeting mitochondria: Lessons from studies with vitamin e analogues, inhibitors of complex ii. *J Bioenerg Biomembr* 2007, **39**: 65–72.
- [9] Neuzil J, Wang XF, Dong LF, Low P, Ralph SJ. Molecular mechanism of „mitocan“-induced apoptosis in cancer cells epitomizes the multiple roles of reactive oxygen species and bcl-2 family proteins. *FEBS Lett* 2006, **580**: 5125–5129.
- [10] Monzote L, Gille L. Mitochondria as a promising antiparasitic target. *Curr Clin*

Pharmacol 2010, **5**: 55–66.

- [11] Kita K, Nihei C, Tomitsuka E. Parasite mitochondria as drug target: diversity and dynamic changes during the life cycle. *Curr Med Chem* 2003, **10**: 2535-48.
- [12] Vaidya AB. Mitochondrial and plastid functions as antimalarial drug targets. *Curr Drug Targets Infect Disord* 2004, **4**: 11–23.
- [13] Indran IR, Tufo G, Pervaiz S, Brenner C. Recent advances in apoptosis, mitochondria and drug resistance in cancer cells. *Biochim Biophys Acta* 2011, **1807**: 735–45.
- [14] Mithani SK, Taube JM, Zhou S, Smith IM, Koch WM, Westra WH, Califano JA. Mitochondrial mutations are a late event in the progression of head and neck squamous cell cancer. *Clin Cancer Res* 2007, **13**: 4331–5.
- [15] Chatterjee A, Mambo E, Sidransky D. Mitochondrial DNA mutations in human cancer. *Oncogene* 2006, **25**: 4663–74.
- [16] Czarnecka AM, Golik P, Bartnik E. Mitochondrial DNA mutations in human neoplasia. *J Appl Genet* 2006, **47**: 67–78.
- [17] Kroemer G, Reed JC. Mitochondrial control of cell death. *Nat Med* 2006, **6**: 513–519.
- [18] Pardo Andreu GL, Inada NM, Pellón RF, Docampo ML, Fascio ML, D'Accorso NB, Vercesi AE. New acridinone derivative with trypanocidal activity. *Int J Antimicrob Agents* 2008, **31(5)**: 502–4.
- [19] Pardo Andreu GL, Inada NM, Pellón RF, Docampo ML, Fascio ML, D'Accorso NB, Vercesi AE. In vitro effect of a new cinnamic acid derivative against the epimastigote form of *Trypanosoma cruzi*. *Arzneimittelforschung* 2009, **59(4)**: 207–11.
- [20] Pardo-Andreu GL, Nuñez-Figueroa Y, Tudella VG, Cuesta-Rubio O, Rodrigues FP, Pestana CR, Uyemura SA, Leopoldino AM, Alberici LC, Curti C. The anti-cancer agent nemorosone is a new potent protonophoric mitochondrial uncoupler. *Mitochondrion* 2011, **11(2)**: 255–63.
- [21] Reis FH, Pardo-Andreu GL, Nuñez-Figueroa Y, Cuesta-Rubio O, Marín-Prida J, Uyemura SA, Curti C, Alberici LC. Clusianone, a naturally occurring nemorosone regioisomer, uncouples rat liver mitochondria and induces HepG2 cell death. *Chem Biol Interact* 2014, **212**: 20–9.
- [22] Pardo-Andreu GL, Nuñez-Figueroa Y, Tudella VG, Cuesta-Rubio O, Rodrigues FP, Pestana CR, Uyemura SA, Leopoldino AM, Alberici LC, Curti C. The anti-cancer agent guttiferone-A permeabilizes mitochondrial membrane: ensuing energetic and oxidative stress implications. *Toxicol Appl Pharmacol* 2011, **253(3)**: 282–9.
- [23] Popolo A, Piccinelli LA, Morello S, Cuesta-Rubio O, Sorrentino R, Rastrelli L, Pinto A. Antiproliferative activity of brown Cuban propolis extract on human breast cancer cells. *Nat Prod Commun* 2009, **4**: 1711–1716.
- [24] Monzote L, Cuesta-Rubio O, Campo Fernandez M, Marquez Hernandez I, Fraga J, Perez K, Kerstens M, Maes L, Cos P. In vitro antimicrobial assessment of Cuban propolis extracts, *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2012, **107**: 978–984.

- [25] Pardo Andreu GL, Reis FH, Dalalio FM, Nuñez Figueredo Y, Cuesta Rubio O, Uyemura SA, Curti C, Alberici LC. The cytotoxic effects of brown Cuban propolis depend on the nemorosone content and may be mediated by mitochondrial uncoupling. *Chem Biol Interact* 2015, **228**: 28–34.
- [26] Marín-Prida, Pardo Andreu GL, Pederiva Rossignoli C, González Durruthy M, Ochoa Rodríguez E, Verdecia Reyes Y, Fernández Acosta R, Uyemura SA, Alberici LC. The cytotoxic effects of VE-3N, a novel 1,4-dihydropyridine derivative, involve the mitochondrial bioenergetic disruption via uncoupling mechanisms. *Toxicology in vitro* 2017, **42**: 21–30.
- [27] Goto RN, Sobral LM, Sousa LO, Marin-Prida J, Pardo-Andreu GL, Ochoa Rodríguez E, Verdecia Reyes Y, Curti C, Leopoldino AM. The cytotoxic effect of a new dihydropyridine derivative, VdiE-2N, in head and neck squamous cell carcinoma. *Eur J Pharmacol* 2017. Submitted