



**VIII Premi PRBB al millor treball de recerca en
Ciències de la Salut i de la Vida**

2013

Treball guanyador del 2n premi

L'àcid el·làgic, la prevenció natural contra el càncer

Núria Grabalosa Peiris

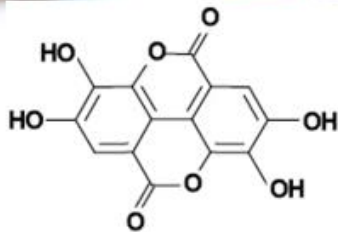
Tutora: Marta Segura

Escola Pia Nostra Senyora (Barcelona)

Treball de Recerca

Escola Pia Nostra Senyora

L'ÀCID EL·LÀGIC, LA PREVENCIÓ NATURAL CONTRA EL CÀNCER



Núria Grabalosa Peiris
Tutora: Marta Segura
2.1 Batxillerat Científic
Gener 2013

Agraïments

En primer lloc, voldria donar les gràcies al Pau Rosés que em fa facilitar el contacte de la Dra. M.Dolors Pujol, persona a qui m'agradaria agrair-li la seva generositat, el temps que ha dedicat i tot el suport i l'ajuda constant que m'ha donat durant tot el procés de pràctiques i d'elaboració del treball. També voldria fer referència als companys del laboratori amb els quals vaig poder compartir molt bons moments.

D'altra banda, vull donar les gràcies a la meva tutora, la Marta Segura, pels ànims i la motivació que m'ha donat i que han servit per tirar endavant i aconseguir, finalment, que el treball acabés sent una realitat.

Per últim, m'agradaria agrair a la meva família la seva companyia, ja que han estat en tot moment al meu costat recolzant-me, i molt especialment als meus pares, per ser-hi sempre.

ÍNDEX

I. INTRODUCCIÓ AL TREBALL	4
--	---

PART TEÒRICA

I. EL CÀNCER

1. CONCEPTES GENERALS	6
1.1 Definició	
1.2 Estadístiques i incidència	
2. EPISTEMOLOGIA	9
2.1 Causes de l'aparició d'un càncer	
3. CARACTERÍSTIQUES	12
3.1 Les cèl·lules tumorals	
3.2 El creixement	
3.3 Diferències entre tumors benignes i malignes	
3.4 Mecanisme d'acció i evolució de les cèl·lules tumorals	
4. GENÈTICA	16
4.1 Els gens del càncer	
4.2 El cicle cel·lular	
5. TRACTAMENTS CONVENCIONALS	19
5.1 Armes terapèutiques	
5.2 La quimioteràpia	
6. CONCLUSIONS I FUTUR DEL CÀNCER	21

II. LA NUTRICIÓ, LA MILLOR PREVENCIÓ CONTRA EL CÀNCER

1. INTRODUCCIÓ A UN NOU CONCEPTE DE TRACTAMENT	22
1.1 Agents quimioterapèutics naturals	
1.2 Canvi d'estratègia	
2. ELS ALIMENTS COM A FONT DE SUBSTÀNCIES ANTITUMORALS	25
2.1 Els compostos fitoquímics	
2.2 Els antioxidants	
2.3 Els polifenols	
3. CONCLUSIONS	31

III. L'ÀCID EL·LÀGIC, L'ANTICANCERIGEN NATURAL PER COMBATRE EL CÀNCER

1. EL DESCOBRIMENT CIENTÍFIC QUE HA REVOLUCIONAT EL FUTUR DEL CÀNCER	32
1.1 Introducció	
1.2 Propietats	
1.3 Aliments rics en àcid el·làgic	
2. CONCLUSIONS I TANCAMENT D'UN CAPÍTOL	36

PART EXPERIMENTAL

I. OBJECTIUS	38
II. DETERMINACIÓ DE LA PRESENCIA D'ÀCID EL·LÀGIC EN FRUITS VERMELLS	39
III. EXTRACCIÓ DE L'ÀCID EL·LÀGIC EN FRUITS VERMELLS	47
IV. PREPARACIÓ DE DOS PROFÀRMACS	52
1. INTRODUCCIÓ	52
1.1 Què és un profàrmac?	
1.2 Un profàrmac d'àcid el·làgic	
2. PROCÉS DE FORMACIÓ D'UN PROFÀRMAC - Éster	54
3. PROCÉS DE FORMACIÓ D'UN PROFÀRMAC – Acetal	57
II. CONCLUSIONS DEL TREBALL	60
III. BIBLIOGRAFIA	62
IV. ANNEXOS	64

I. INTRODUCCIÓ GENERAL AL TREBALL

El Treball de Recerca que es presenta a continuació tracta sobre un nou compost químic natural descobert recentment que ha revolucionat el món de la medicina, ja que entre les nombroses propietats beneficioses que té per l'organisme, destaca la seva elevada capacitat com a antioxidant, i sobretot, com a anticancerígen. Aquest element s'anomena Àcid El·làgic i es troba de forma natural contingut en aliments vegetals, principalment, en els fruits vermells.

S'han publicat diversos estudis i articles científics sobre l'Àcid El·làgic on es descriuen les seves característiques i les seves propietats, però els resultats obtinguts fins al moment, han sigut realitzats només en cultius cel·lulars i animals de laboratori. Per aquest motiu, encara no són del tot fiables, ja que es necessiten més proves per determinar-ne l'activitat biològica.

Actualment, els experts asseguren que l'Àcid El·làgic podria obrir un nou camí cap al tractament i, fins i tot la curació d'aquesta malaltia. Per aquest motiu, l'interès en descobrir quin mecanisme utilitza per combatre les cèl·lules tumorals ha fet que se n'incrementés recerca i la seva popularitat s'ha difós entre els professionals.

Pel que fa al meu Treball de Recerca, l'opció de realitzar-lo sobre la prevenció del càncer en relació amb l'Àcid El·làgic va sorgir de l'entrevista que vaig tenir amb la Dra. M.Dolors Pujol (Cap del Departament de Química Farmacèutica de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de Barcelona), que dirigeix i coordina projectes d'investigació basats en la recerca de nous fàrmacs antitumorals. Ella mateixa em va estar explicant quins eren els objectius dels seus estudis, en quin àmbit es centraven i quines eren les seves línies de treball. Entre les moltes propostes em va fer, em va cridar l'atenció especialment, la d'aquest compost nou que havien descobert feia poc, que es trobava present en els fruits vermells i que posseïa moltes propietats beneficioses per la salut. El seu grup de recerca encara no havia experimentat amb ell, i em va proposar de fer una investigació, senzilla i assequible als meus coneixements de batxillerat, sobre l'Àcid El·làgic que em serviria a mi com a tema de Treball de Recerca, i al seu torn, al grup d'investigadors com una petita introducció a aquest nou compost.

La idea em va semblar molt interessant, tenia ganes d'experimentar i de descobrir les propietats d'aquest àcid, del qual tothom en deia meravelles. Així doncs, vaig acceptar i a partir d'aquest moment vam començar a dissenyar quines pràctiques podríem fer amb aquest compost. Jo no volia que el treball fos simplement pràctic, per això, ella em va suggerir fer una breu introducció al càncer centrant-nos principalment, en la prevenció d'aquesta malaltia a través de l'alimentació, basada en una dieta composta per aliments rics en compostos antioxidants i antitumorals. D'aquesta manera, ens permetria aproximar-nos al concepte de l'Àcid El·làgic, i d'altra banda, enllaçar aquesta primera part de caràcter teòric, amb les pràctiques experimentals realitzades a partir d'aquest compost.

Així doncs, el Treball de Recerca que es presenta a continuació consta de dues parts; la primera de caràcter teòric, pretén fer una petita introducció al món del càncer i als diversos temes relacionats amb aquest per tal de centrar-nos en la prevenció d'aquesta malaltia mitjançant la ingesta d'aliments rics en substàncies beneficioses per la salut, a partir de la qual arribarem al nucli, l'Àcid El·làgic. En segon lloc, la segona part fa referència a les pràctiques realitzades experimentalment al laboratori a partir d'aquest compost, en les quals intentarem extreure'l de l'interior de diversos fruits vermells i utilitzar aquesta quantitat per formar un fàrmac amb capacitat antitumoral.

PART TEÒRICA

I. EL CÀNCER

1. CONCEPTES GENERALS

1.1 Definició

El terme càncer, també anomenat clínicament com a neoplàsia maligna, s'utilitza per descriure el creixement tumoral dels teixits de caràcter maligne i pertorbador de les funcions biològiques normals. Engloba un conjunt de més de cent malalties i estats patològics en què les cèl·lules proliferen desmesurada i incontroladament i com a conseqüència, envaeixen i destrueixen teixits circumdants i s'estenen a altres parts del cos a través de la circulació sanguínia o limfàtica, produint metàstasi.

Encara que existeixin més de 200 tipus de càncers diferents, amb unes característiques particulars que permeten considerar-los independents i amb les seves pròpies causes, evolució i tractament específic, tots presenten, en qualsevol cas, una característica comuna que els defineix: les cèl·lules cancerígenes que desencadenen l'aparició d'un tumor descendeixen d'una única cèl·lula ancestral, que en el moment de la seva formació, generalment dècades abans que el tumor es manifesti, va desenvolupar una mutació irreparable en algun dels gens específics encarregats de controlar el cicle de divisió de la cèl·lula.

La majoria de les mutacions que es produeixen en humans són degudes principalment, a l'acció d'agents mutagènics en l'organisme, que conseqüentment, indueixen a que aquestes es produeixin, tot i que de vegades, en menor incidència, també poden ser de caràcter espontani.

Avui dia, el càncer és un tema d'investigació científica actual i del qual se'n parla molt, no només entre la comunitat científica, sinó també, entre la majoria de la població mundial, degut a que és la segona causa principal de mort, rere les malalties cardiovasculars en els països occidentals. Però el seu origen no és actual. Per trobar l'etimologia del mot càncer ens cal remuntar fins l'època del grec Hipòcrates, que ja en aquell temps, va utilitzar els mots *carcinosis* i *carcinoma* per descriure els bonys i inflamacions que presentaven els seus pacients, i que en grec, es refereixen a la paraula cranc.

Hipòcrates va definir d'aquesta manera el càncer ja que la forma que adoptaven els tumors s'assemblava molt a la d'un cranc; amb la seva massa sòlida i les ramificacions que en descendeixen d'ella i que s'estenen als teixits adjacents, recordant les potes d'aquest animal.

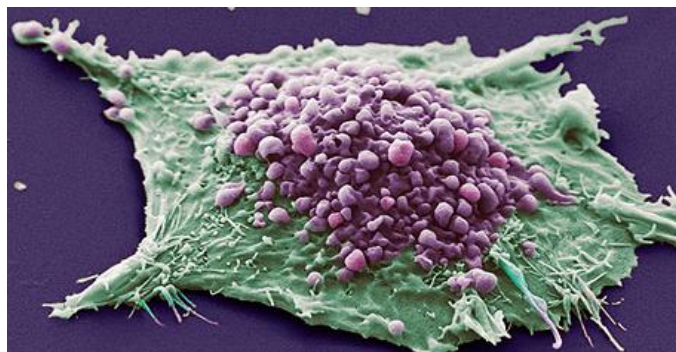


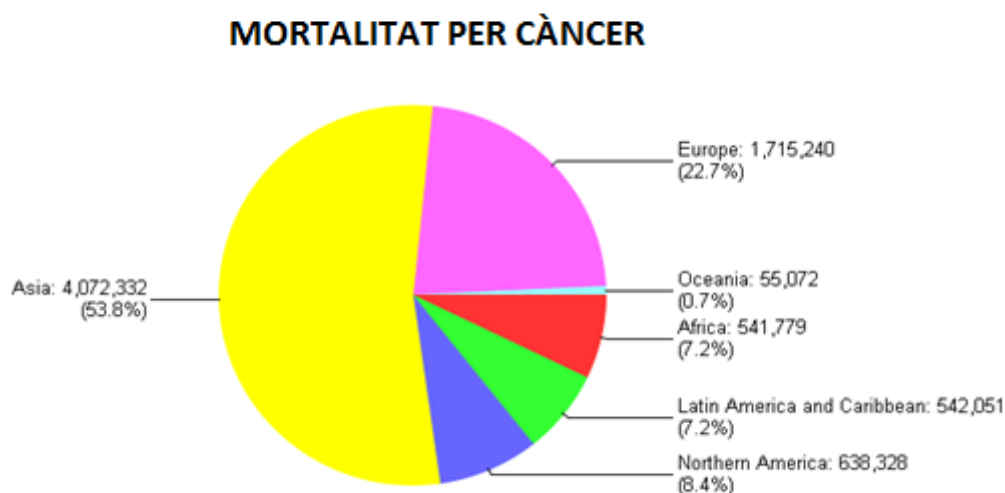
Figura 1. Imatge microscòpica de les ramificacions d'una cèl·lula cancerosa

1.2 Estadístiques i incidència

El càncer és la segona causa de mort als països occidentals després des les malalties cardiovasculars i la primera a escala mundial. Però mentre que aquestes s'estan reduint considerablement al llarg dels últims anys, les morts per càncer continuen creixent fins al punt que els experts estimen que al llarg del segle vint-i-u arribaran a ser la primera causa de mort als països desenvolupats.

Malgrat tot, la taxa de supervivència en pacients amb càncer ha augmentat lleugerament respecte anys anteriors, degut principalment, a les campanyes de conscienciació i prevenció impulsades per governs i institucions sanitàries. Aquestes campanyes, dirigides a la població en general, promouen l'adopció d'estils i hàbits de vida més saludables. Recomanen sobretot a les persones que es troben en edat de risc de contraure la malaltia, a què es realitzin exàmens periòdics de detecció per tal de descartar possibles anomalies, i en el cas que ja hagin presentat els primers indicis propis de la malaltia, siguin a temps de curar-los.

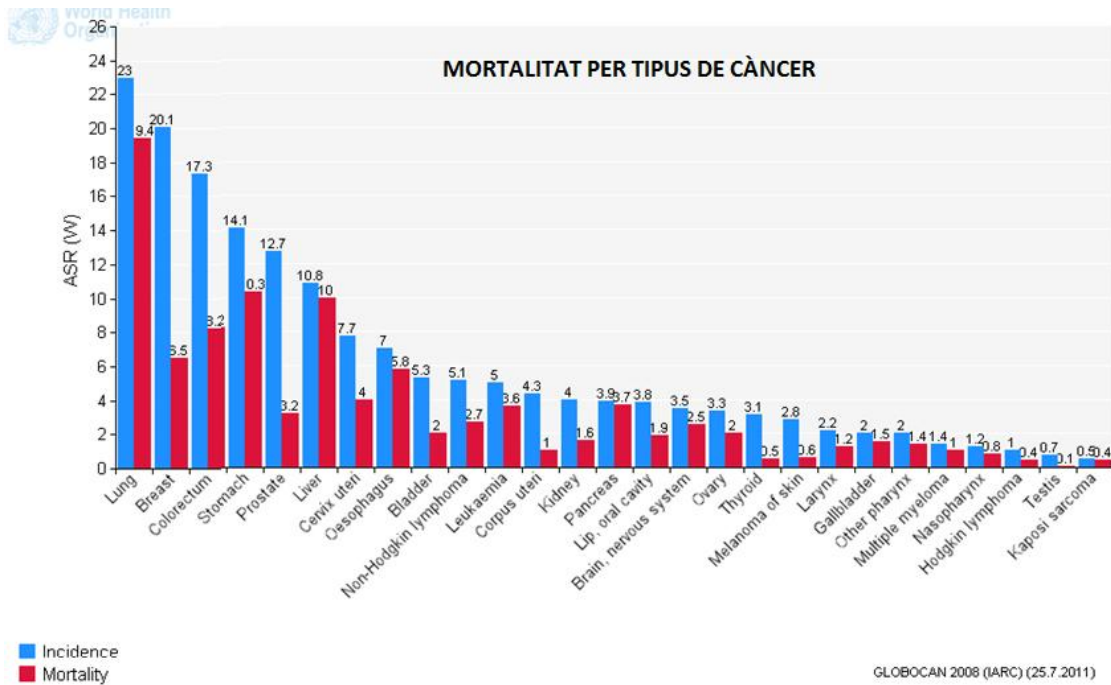
A continuació es mostra un gràfic que mostra la incidència que les morts per càncer van tenir al món durant l'any 2008. Les dades obtingudes fan referència a persones de totes les edats i sexes, i estan basats en tots els tipus de càncers, a excepció del de pell. Els resultats són estimats i es presenten en tant per cent i en xifres reals de morts.



Gràfic 1. Mortalitat per càncer al món, 2008 (Font: OMS)

En l'anterior gràfic es pot observar com el continent del món que presenta un índex més elevat de mortalitat per càncer és Àsia (53,8%), seguit a molta distància, més del doble, d'Europa (22,7%). En menys quantitat els segueixen Amèrica del Nord i del Sud, Àfrica, i en última posició es troba Oceania, ja que la seva mínima extensió territorial fa que la incidència més baixa.

A continuació, es mostra un segon gràfic representatiu de quins són els tipus de càncer que tenen més incidència, i que per tant, provoquen més morts entre la població. Les dades obtingudes són aproximades de tot el món i fan referència a persones de totes les edats i sexes.



Gràfic 2. Incidència i mortalitat per tipus de càncer, 2008 (Font: OMS)

Analitzant el gràfic es determina que el tipus de tumor maligne que té més incidència i mortalitat mundialment és el de pulmó, degut principalment a l'efecte del tabac i a la contaminació ambiental. En segona posició, trobem el de mama, que encara que només pugui afectar una part específica de tota la població mundial, les dones de més de 30 anys, té una importància remarcable. Per contra, però, la bona notícia és que l'efecte que té aquest últim és molt més elevat que no pas l'índex de mortalitat, fet que destaca gràcies a l'eficàcia que els avenços mèdics i tecnològics tenen en la curació d'aquest càncer. Seguidament, en trobem d'altres tan importants com són els de colòn, estómac, pròstata o fetge.

2. EPISTEMOLOGIA

2.1 Causes de l'aparició d'un càncer

El càncer, com la majoria de les malalties que patim els humans, no té una causa concreta i específica que en determini l'aparició, sinó que es tracta d'un conjunt de circumstàncies interrelacionades entre si que fan que una persona pugui desencadenar la malaltia. Per aquest motiu, els experts diuen que el càncer es tracta d'un fenomen multifactorial.

Malgrat aquest fet, els investigadors i epidemiòlegs que n'estudien els patrons generals de comportament han determinat que el càncer té més de 150 causes conegudes, tot i que, els principals factors de risc que incrementen la probabilitat de contraure la malaltia es poden resumir en dos grans grups: factors endògens i exògens. Aquests inclouen una sèrie de substàncies carcinogèniques, és a dir, tots aquells agents que en relació amb l'organisme poden provocar alteracions i mutacions genètiques en les cèl·lules i que deriven en l'aparició d'un càncer.

2.1.1 Factors endògens

Els factors endògens es defineixen com els que comprenen la constitució o dotació genètica d'un individu. Són de caràcter hereditari, i per tant, no són evitables ja que es transmeten de pares a fills. Només un 20% del total de càncers que existeixen actualment són deguts a les alteracions genètiques adquirides.

2.1.2 Factors exògens:

Són considerats com a factors exògens tots aquells aspectes relacionats amb l'ambient i els agents externs que afecten al nostre organisme i que comprenen el principal factor de risc de desenvolupar un càncer. Generalment, inclouen factors que nosaltres triem i que per tant, també podem evitar, per això, la gran majoria de càncers que afecten a la població mundial estan estretament relacionats amb els hàbits i estils de vida que adopten les diferents societats.

A continuació, s'expliquen quins són els factors ambientals més importants que afavoreixen l'aparició d'un càncer en els humans. Aquests agents carcinògens que eleven les probabilitats de patir la malaltia es poden classificar segons si són de caràcter químic, físic o biològic.

- ❖ **Edat:** és un dels principals factors de risc ja que dues terceres parts del total de càncers actuals succeeixen en persones de més de 65 anys. Els motius fonamentals són el temps i l'envelliment cel·lular ja que les mutacions i els errors genètics es van acumulant i cada cop l'organisme té mecanismes menys eficients que combatin les malignitats cel·lulars.
- ❖ **Dieta i estil de vida:** és el segon factor de risc més important i representa el 35% dels càncers actuals. Les dietes amb un alt contingut en greixos, colesterol i productes d'origen animal (embotits i carns vermelles) contribueixen en l'aparició de diversos tipus de càncer (còlon, estómac o pàncrees), així com també, els aliments que siguin molt salats o fumats, i que continguin colorants, conservants o altres additius.
Per altra banda, les persones amb sobrepès i obesitat multipliquen per dos la taxa de desenvolupar un càncer. Per aquest motiu, els experts recomanen a la població adoptar hàbits alimentaris i estils de vida saludables, que incloguin la ingesta diària de productes d'origen vegetal, com les fruites, verdures o els cereals. En aquesta recomanació també inclouen practicar regularment alguna activitat física.

- ❖ **Tabac:** fumar és un dels hàbits amb més efectes perjudicials sobre la salut ja que comporta el risc de contraure malalties, principalment, respiratòries. En el cas del càncer aquesta substància és la responsable del 96% dels càncers de pulmó i del 30% de tots els tumors. Però aquestes dades no fan referència exclusivament als fumadors, sinó que també afecten als que estan al seu voltant ja que respiren indirectament el fum que es desprèn de les cigarretes. El seu elevat contingut en substàncies tòxiques, com el benzopirè, a l'entrar en contacte amb l'organisme es converteixen en elements carcinògens que promouen la formació de mutacions.
- ❖ **Alcohol:** el consum d'alcohol de forma regular combinat amb el tabac i altres substàncies nocives o citotòxiques (drogues) augmenta considerablement el risc de patir càncer ja que es creu que el seu efecte potencia i multiplica el del tabac. L'alcohol malmet el fetge, per això, es considera el principal responsable de la majoria de càncers hepàtics.

La següent figura mostra un esquema representatiu dels factors que afavoreixen o perjudiquen la predisposició en contraure un càncer.

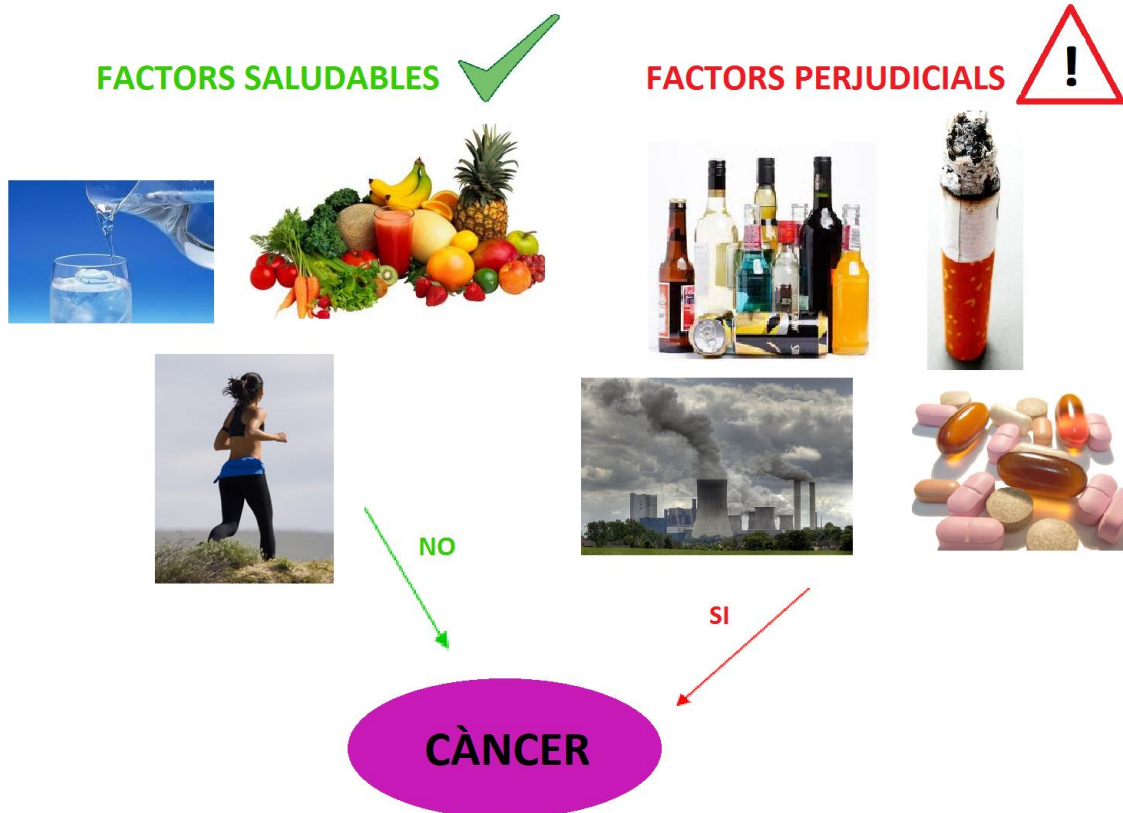


Figura 2. Esquema gràfic dels factors que intervien en l'aparició d'un càncer

- ❖ **Contaminació ambiental:** els humans estem exposats constantment a l'acció d'agents tòxics i perillosos pel nostre organisme presents en l'ambient i en l'entorn que ens envolta. Entre aquests components carcinògens trobem els gasos i fums contaminants que es desprenen de les reaccions de combustió, els emesos pels motors d'explosió, els metalls pesants com el plom, l'arsènic o el pal·ladi, el quitrà present en l'asfalt o el radó, un gas radioactiu d'origen natural que trobem en les neveres d'ús domèstic. L'exposició perllongada a aquests agents contaminants, així com viure en regions industrials o en ciutats amb un índex elevat de contaminació atmosfèrica i pol·lució, afavoreixen el desenvolupament de càncers, sobretot en vies respiratòries.
- ❖ **Substàncies químiques:** els productes químics usats en la producció de materials i la indústria de nous compostos són perjudicials i tòxics per a la salut. Entre aquests, n'hi ha que han estat determinats com a substàncies carcinògenes, com poden ser l'amiant (fibres minerals), els hidrocarburs aromàtics, com el benzè o la benzidina, la gasolina o els pesticides.
- ❖ **Radiacions:** les radiacions ionitzants (gamma, raigs X) són perjudicials pels teixits i cèl·lules de l'organisme ja que danyen l'estructura del DNA i destrueixen els seus mecanismes de reparació, afavorint la producció de mutacions de caràcter irreversible. Tanmateix, una tècnica emprada en la curació del càncer es basa en l'administració de dosis importants de raigs d'alta energia per destruir les cèl·lules canceroses d'una regió, la radioteràpia. Un altre tipus de raigs danyosos són els de la llum solar, també anomenats ultraviolats o UV-B. L'exposició perllongada al sol en les hores de màxima intensitat i sense crema protectora influeix considerablement en l'aparició de càncers de pell i melanomes malignes.
- ❖ **Virus:** aquestes formes de vida tan simples i microscòpiques poden ser la causa d'un càncer ja que alguns d'aquests tenen la capacitat de formar part del material genètic d'una cèl·lula, produint mutacions en els seus gens. Alguns dels virus que s'han associat amb un major risc de càncer són els del VIH-Sida (Immunodeficiència humana), el del papil·loma humà o els de l'hepatitis B i C.
- ❖ **Salut i fàrmacs:** el fet de patir alguna malaltia o tenir un sistema immunitari deficient i sensible a qualsevol agent infecció pot provocar l'aparició d'un càncer ja que les defenses de l'organisme, en el cas que aparegués un tumor, no serien prou fortes i resistents a l'acció d'un càncer, i aquest s'acabaria imposant. D'altra banda, els experts han determinat que certs fàrmacs, com les hormones, els immunosupressors o fins i tot, alguns antitumorals utilitzats anteriorment en quimioteràpia poden provocar el risc de desenvolupar un càncer.

3. CARACTERÍSTIQUES

3.1 Les cèl·lules tumorals

Les cèl·lules tumorals presents en el teixit d'origen afectat per la malaltia, que donen nom al tipus de càncer, tenen unes característiques molt específiques i concretes que les diferencien de les normals. Entre les moltes propietats que les caracteritzen, algunes de les més significatives són les següents:

- ❖ Alteració dels gens encarregats de controlar els processos que estimulen el creixement i divisió cel·lular i els que els aturen (gens de proliferació i antiproliferació).
- ❖ Pèrdua de sensibilitat respecte els factors de creixement, que són els que promouen la diferenciació cel·lular i aïllen les cèl·lules en els seus teixits.
- ❖ Capacitat per induir el procés de formació de nous vasos sanguinis a partir dels ja existents, angiogenesis.
- ❖ Manca de resposta davant les cèl·lules del sistema immunitari (limfòcits T) segregades per l'organisme que s'encarreguen de protegir el cos contra l'acció d'aquestes i combatre-les.
- ❖ Inhibició dels mecanismes cel·lulars interns que indueixen a la mort cel·lular "programada", apoptosi.
- ❖ Carència d'inhibició per contacte - quan dues cèl·lules es toquen, cadascuna impedeix que l'altra també es divideixi per tal d'evitar el creixement excessiu i la invasió a altres teixits.

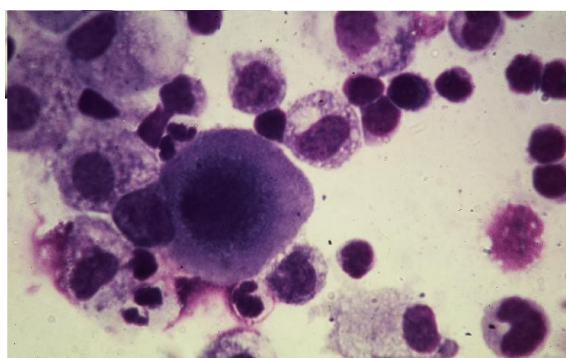


Figura 3. Imatge microscòpica de cèl·lules tumorals presents en la medul·la òssia

3.2 El creixement

El càncer constitueix la proliferació descontrolada d'un grup de cèl·lules malignes dins d'un teixit de l'organisme, iniciant-se d'aquesta manera, la formació d'una massa sòlida diferenciable de la resta, denominada tumor. Aquest creixement de les cèl·lules canceroses té les següents característiques pròpies:

- ❖ **Accelerat:** el fet que les cèl·lules estiguin en constant divisió fa que el seu creixement es produeixi de forma molt més ràpida i precipitada que no pas si ho fessin cèl·lules normals.
- ❖ **Descontrolat i excessiu:** degut a que les cèl·lules tumorals no estan influïdes pels factors de creixement i altres estímuls que controlen el bon funcionament de la divisió cel·lular, el seu creixement és incontrolat i sobrepassen els límits normals.
- ❖ **Invasiu i intrusiu:** tenen la capacitat per infiltrar-se i penetrar en el teixits circumdants sans, atacant-los i destruint-los. Moltes vegades superen les membranes que limiten els òrgans adjacents i a través de la via sanguínia o limfàtica es disseminen a altres parts del cos, produint metàstasi.

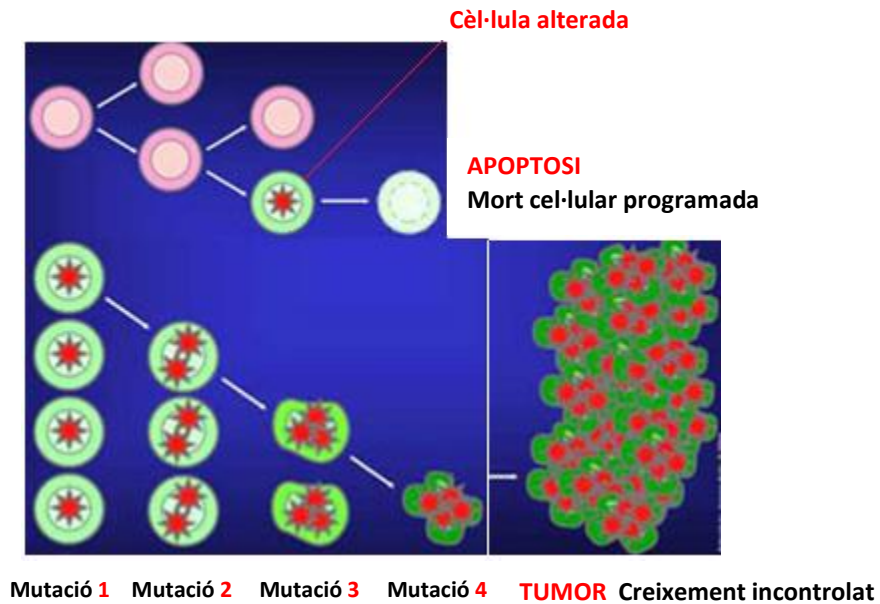


Figura 4. Divisió i creixement d'una cèl·lula tumoral

3.3 Diferències entre tumors benignes i malignes

Un tumor és una massa sòlida i compacta que es produeix quan un grup de cèl·lules alterades genèticament proliferen de manera violenta. La paraula tumor, però, s'usa tant pels que són de caràcter maligne, i per tant cancerígens, com els que no.

❖ *Tumor benigne*

És considerat com a tumor benigne aquella massa consistent i densa formada per un conjunt de cèl·lules que han crescut més del normal, ocasionant un bony diferenciable de la resta de teixit. Un exemple de tumors benignes són les pigues o les berrugues. En un principi, no són cancerígens i no tenen cap risc d'evolucionar en un càncer, tot i que és recomanable realitzar un seguiment mèdic, i en cas que s'observi un canvi en la forma o color, extirpar-los.

Les cèl·lules que presenten els tumors benignes no són invasores, és a dir, no s'estenen cap a d'altres teixits ni afecten els òrgans sans, simplement, es mantenen encapsulades en el teixit d'origen. D'altra banda, els tumors benignes són fàcilment diferenciables dels malignes ja que les seves cèl·lules conserven semblança en les propietats i en la forma del teixit primari del qual provenen.

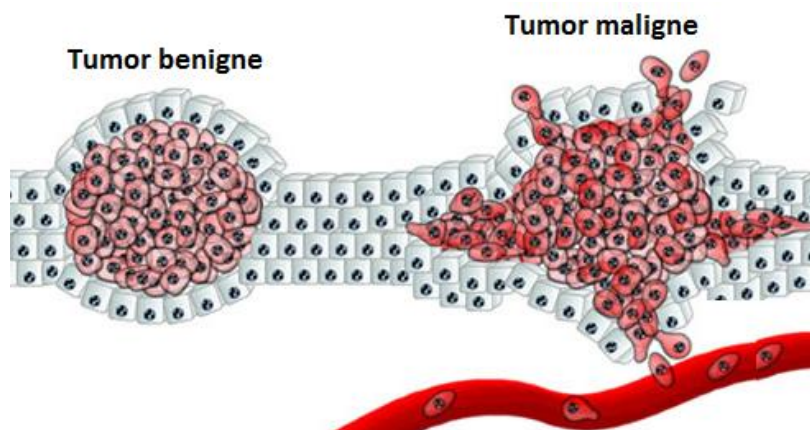


Figura 5. Comparació entre un tumor benigne i un maligne

❖ **Tumor maligne**

Un tumor maligne és un bony i inflamació histolítica formada per un grup de cèl·lules alterades amb capacitats destructives i dangeroses sobre els teixits sans de l'organisme. Per tant, són considerats com els causants de l'aparició d'un càncer.

Entre les principals característiques, els tumors malignes destaquen perquè les seves cèl·lules tumorals no es mantenen en el teixit original sinó que tenen la facultat d'envair i dispersar-se als teixits circumdants. D'aquesta manera, posseeixen la capacitat de produir metàstasi, destruint la membrana basal del teixit primari i introduint-se en les vies sanguínies o limfàtiques per tal de transportar-se i penetrar en altres òrgans sans.

A més a més, el seu creixement i la seva proliferació incontrolada, excessiva i accelerada, fa que augmenti de forma vertiginosa la seva grandària i que aquesta, al seu torn, evolucioni violentament cap a estadis de malignitat superiors.

3.4 Mecanisme d'acció i evolució de les cèl·lules tumorals

El càncer, com bona part de les malalties, no apareix d'un moment a l'altre, sinó que comprèn una sèrie de fases i estadis que abarquen des del període inicial, quan es produeix un error en el material genètic d'una cèl·lula, fins a la disseminació per metàstasi del tumor a la resta del cos.

El procés pel qual les cèl·lules tumorals es propaguen i desenvolupen en l'organisme s'anomena *carciogènesi* i consta de tres fases.

- 1. Iniciació:** l'origen de l'aparició d'un càncer comença quan es produeixen mutacions i alteracions en els gens encarregats de controlar el cicle de divisió de les cèl·lules (gens de proliferació i antiproliferació). Aquestes mutacions són ocasionades a causa de l'exposició a determinats agents mutagènics, com el tabac, les radiacions ultraviolades o la contaminació atmosfèrica, entre d'altres, així com, la presència de components genètics malignes de caràcter hereditari que presenten algunes persones.
- 2. Promoció:** un cop la cèl·lula ja ha patit una mutació aquesta comença a dividir-se de forma anormal excedint els límits habituals ja que els mecanismes de control estan bloquejats i per tant, creix de forma incontrolada.
La manifestació del tumor, però, no és immediata, sinó que triga aproximadament, entre 5 i 10 anys a formar-se. Durant aquest temps s'estima que perquè la grandària del tumor sigui visible per les tècniques d'imatge cal que la cèl·lula es divideixi entre 25 i 30 vegades.
En aquest moment s'anomenaria tumor primari i mantindria encara la mateixa estructura que el teixit d'origen, però, poc a poc, la seva mida augmentaria de forma vertiginosa i no tardaria gaire en sobrepassar els límits i estendre's cap als teixits adjacents.
- 3. Progressió:** l'últim estadi que adquireix un tumor són els vasos sanguinis, que permeten que aquest es dissemini a altres parts del cos a través del torrent sanguini i afecti altres òrgans vitals. El tumor necessita alimentar-se per seguir creixent, per això, pateix un procés de vascularització anomenat *angiogènesi*, que consisteix en la formació de nous vasos sanguinis a partir dels ja existents, amb la finalitat d'obtenir l'oxigen i els nutrients que es transporten a través de la sang, necessaris per viure i autoalimentar-se.
Malgrat tot, però, la gran majoria de tumors es propaguen generalment mitjançant la via limfàtica i un dels primers òrgans que afecten són els ganglis. De fet, no és estrany que un dels símptomes inicials de la malaltia sigui la inflamació d'aquests.

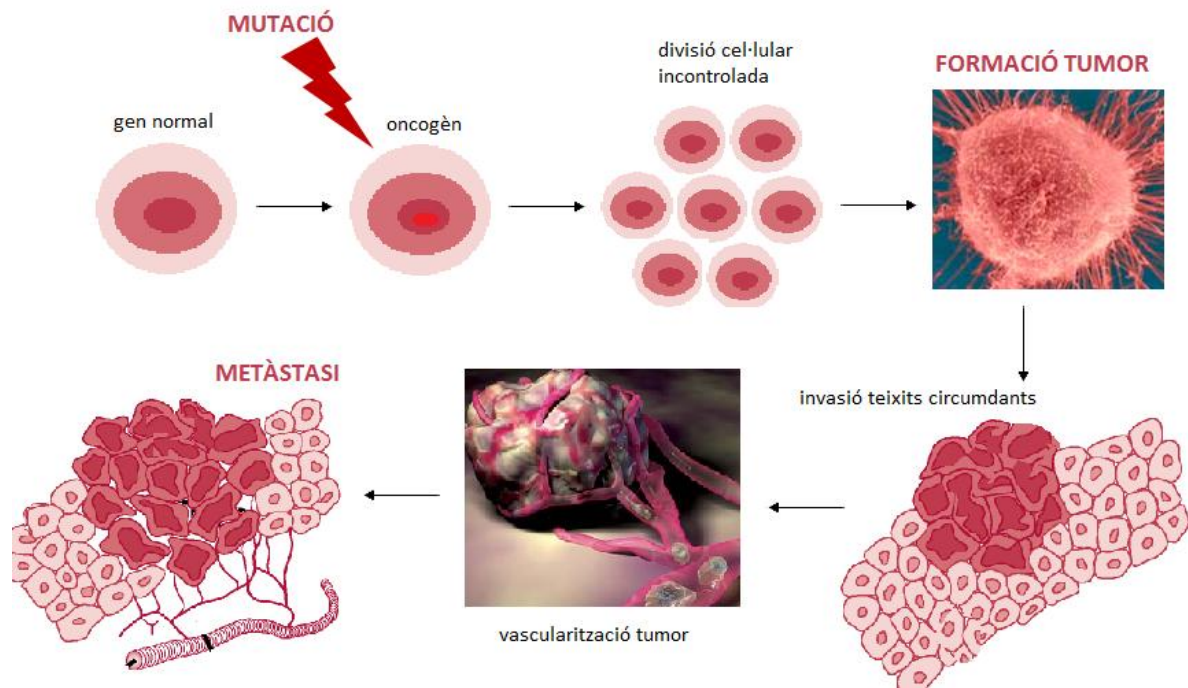


Figura 6. Procés evolutiu que segueix una cèl·lula cancerosa

4. GENÈTICA

4.1 Els gens del càncer

Actualment, es considera que la majoria de càncers diagnosticats són deguts als factors externs que afecten el nostre organisme (aspectes ambientals i estils de vida). Anteriorment, però, no era així. A principis del segle XX, quan van aparèixer les primeres morts per càncer aquesta era una malaltia nova i poc investigada científicament. Per això, els experts la van descriure com una malaltia de caràcter genètic en què els descendents d'una persona malalta de càncer estaven predestinats a patir la malaltia. Amb el pas dels anys, i gràcies a l'aparició de noves tècniques de tractament s'han pogut estudiar quines són les causes i el mecanisme d'acció dels càncers.

D'aquesta manera, avui en dia, només hi ha una minoria de càncers, com els de mama o còlon que tenen un component genètic hereditari.

Un tumor s'origina a causa de les mutacions o alteracions que afecten els gens encarregats de controlar els processos que estimulen el creixement i divisió cel·lular i els que els aturen. Aquests gens són els següents:

- ❖ **Oncogèns:** en una cèl·lula sana els oncogèns produeixen unes proteïnes que estimulen la proliferació cel·lular. Quan té lloc una mutació en aquest tipus de gens fa que es fabriquin una quantitat excessiva de proteïnes. Sense la mediació dels factors de creixement els oncogèns estan incontrolats i originen un creixement exagerat i desproporcionat. El tipus més freqüents en tumors són els anomenats *Ras*, presents en el 25% de càncers.
- ❖ **Gens supressors de tumors:** tota cèl·lula normal està constituïda per uns gens que, en cas d'error, aturen el cicle de divisió cel·lular en uns punts concrets i indueixen a la mort cel·lular programada, apoptosi. En una cèl·lula mutada els mecanismes interns que donen els senyals d'alerta i que activen aquests gens estan alterats, per tant, la cèl·lula continua creixent i dividint-se incontroladament. El supressor de tumors més comú en càncers, és el *p53*, també anomenat "policia cel·lular" que vigila i vetlla per la integritat del DNA.

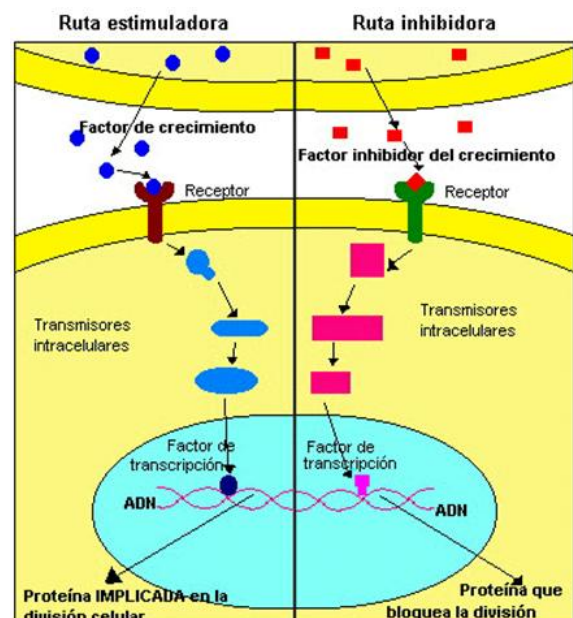
Una manera fàcil de descriure la funció que fan aquest tipus de gens en la cèl·lula seria imaginar-se que si la cèl·lula fos un cotxe, els oncogèns serien els acceleradors i els oncosupressors els frens.

4.1.1 Factors i estímuls de creixement

D'altra banda, a part dels gens que estimulen la proliferació cel·lular i dels que aturen el cicle en uns punts concrets, també existeixen unes substàncies químiques, la majoria de naturalesa proteica i externes a l'individu, que poden incitar al creixement cel·lular o que el poden inhibir.

Aquestes substàncies s'anomenen factors de creixement i el seu mecanisme d'acció es veu reflectit en la **Figura 7**.

Figura 7. Comparació entre la ruta dels factors estimuladors i inhibidors del creixement tumoral



Els factors estimuladors o inhibidors del creixement cel·lular s'uneixen a receptors específics presents en la membrana plasmàtica, activant els senyals i transmissors intracel·lulars. Aquests, una vegada estan actius són capaços d'introduir-se en el nucli cel·lular i incidir en els processos de transcripció per tal que es formi una nova proteïna que impulsarà la divisió cel·lular o bé la bloquejarà en cas d'error.

En el cas del càncer, els factors de creixement que estan relacionats amb l'estimulació de l'angiogènesi - formació de nous vasos sanguinis, com el *VEGF* (*factor de creixement de l'endoteli vascular*) - són precisos en la invasió del càncer en d'altres teixits, produint, d'aquesta manera, metàstasi.

4.2 El cicle cel·lular

El cicle cel·lular té un paper molt important en el desenvolupament de les cèl·lules tumorals.

La vida d'una cèl·lula passa per diferents fases, el conjunt de les quals s'anomena cicle cel·lular. Per tant, es definiria el cicle cel·lular com una seqüència ordenada de processos i modificacions que experimenta cada cèl·lula des que es forma, a partir de la divisió d'una cèl·lula mare, fins al moment en què acaba de dividir-se per originar dues cèl·lules filles genèticament idèntiques.

El cicle cel·lular en organismes eucariotes es divideix en dues etapes:

1. Interfase: període sense divisió en el que hi ha una gran activitat bioquímica i es duplica el DNA de la cèl·lula. Aquesta, però, no experimenta cap modificació estructural. Comprèn el 90% del cicle cel·lular i inclou les següents fases: G_1 , S i G_2 .

- ❖ **Etapa G_1 :** període comprès entre el final de la divisió anterior i el començament del nou cicle cel·lular. La cèl·lula duu a terme la síntesi de proteïnes (traducció) i la síntesi de l'ARN (transcripció de gens). És una etapa de creixement cel·lular citoplasmàtic en què també es dupliquen els centríols.

- ❖ **Etapa S:** etapa en què té lloc la duplicació del DNA.

- ❖ **Etapa G_2 :** darrera etapa de preparació per la divisió cel·lular. Comença un cop el tot el DNA ja ha estat duplicat i acaba quan s'inicia la fase mitòtica. Al final d'aquesta, la cromatina es condensa i es comencen a fer visibles els cromosomes, moment en què comença la mitosi.

2. Divisió: període en el qual es reparteix equitativament el material genètic (cromosomes) a les cèl·lules filles, formades a partir d'una única cèl·lula mare. Comprèn la mitosi (divisió del nucli cel·lular) i la citocinesi (divisió del citoplasma).

- ❖ **Mitosis:** període en què es divideix el nucli i en el que es produeix la separació del material genètic duplicat en la fase S. Inclou les següents etapes determinades: profase, prometafase, metafase, anafase i telofase.

- ❖ **Citocinesi:** constitueix la segona i última fase de divisió cel·lular en la qual es divideix el citoplasma i es produeix la separació i independització de les cèl·lules filles.

4.2.1 Control del cycle cel·lular

El cycle cel·lular requereix d'uns mecanismes de vigilància que controlen cada pas en la progressió de les diferents fases que el comprenen. Per això, existeixen unes proteïnes, anomenades ciclines i quinases, que vetllen el bon funcionament en dos passos transitoris del cycle.

Aquestes, però, necessiten unir-se per tenir activitat enzimàtica. D'aquesta manera, se les anomena *quinases dependents de ciclines (Cdk)*.

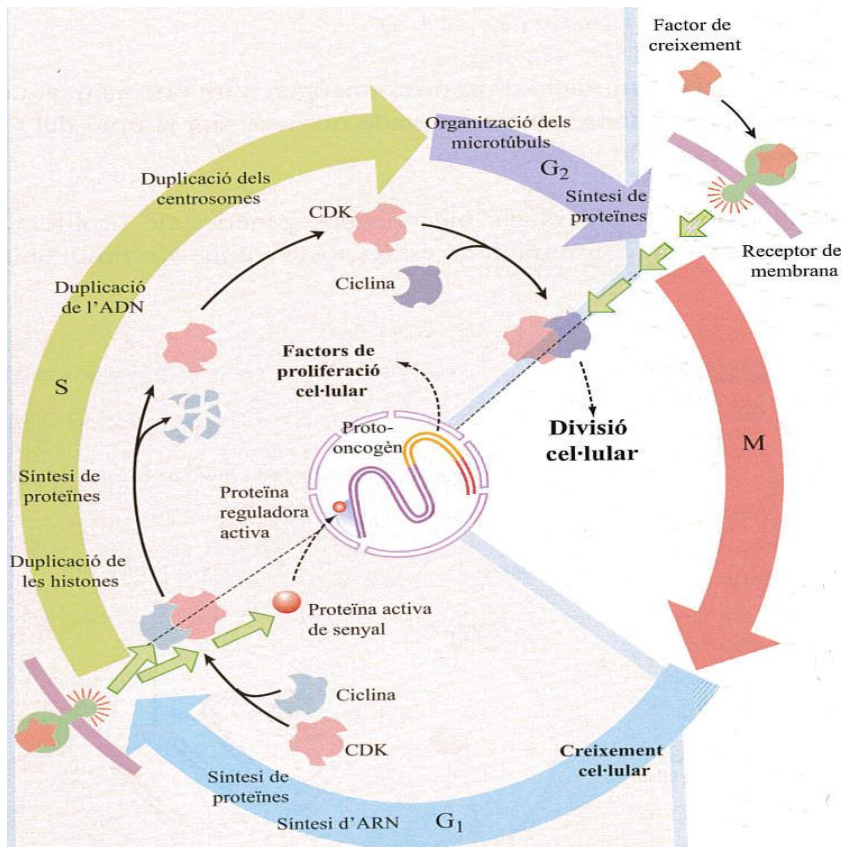


Figura 8. Control del cycle cel·lular

Els passos entre les etapes del cycle cel·lular que controlen són els següents:

- ❖ **De G₁ a S:** la ciclina G₁ s'acoba a les CDK, la unió de les quals desencadena els mecanismes de duplicació del DNA. Un cop la fase S ja ha tingut lloc la ciclina G₁ es degrada i les CDK continuen la progressió del cycle.
- ❖ **De G₂ a M:** un cop la cèl·lula ja està preparada per a la divisió la ciclina mitòtica s'uneix a les CDK. La formació d'aquest complex desencadena l'inici dels processos de mitosi. Quan aquesta ja ha començat la ciclina mitòtica es destrueix i es produeix la divisió.

L'acció de les CDK en el control del cycle cel·lular està condicionada per una sèrie de circumstàncies, en les que l'entorn cel·lular, la mida i la correcta duplicació de l'ADN juguen un paper important, ja que si aquests es troben en condicions desfavorables que posin en perill la formació de les noves cèl·lules filles, les CDK no actuaran.

5. TRACTAMENTS CONVENCIONALS

5.1 Armes terapèutiques

La majoria dels càncers que es produeixen actualment són tractats per professionals experts, i poden arribar a ser curats mitjançant l'ús de diverses tècniques mèdiques especialitzades en el tractament d'aquest tipus de malaltia.

Les principals armes terapèutiques que existeixen avui en dia per combatre el càncer són principalment, la cirurgia, la radioteràpia o la quimioteràpia, entre d'altres.

❖ **Cirurgia:** és la forma més antiga de tractament del càncer tot i que actualment, va perdent rellevància per donar pas a noves tècniques més desenvolupades. Consisteix en l'extirpació del tumor o tumors presents en l'individu mitjançant una intervenció quirúrgica. Moltes vegades però, no és prou eficaç ja que no assegura la total eliminació de les cèl·lules canceroses. També és limitada pel fet que només s'utilitza en el cas que ja s'hagi produït metastasi i el tumor s'hagi estès en d'altres teixits.

❖ **Radioteràpia:** és un tipus de tractament oncològic que utilitza importants dosis de radiacions o partícules d'alta energia per destruir les cèl·lules malignes, impedit, d'aquesta manera que creixin i es reproduïxen. L'inconvenient, però, de la utilització de la radioteràpia és que és un tractament local, és a dir, només actua sobre una àrea determinada i concreta. Per aquest motiu, cal sotmetre el pacient a aquestes sessions tan agressives per l'organisme diverses vegades per tal d'eliminar per complet el tumor.

❖ **Altres teràpies:** el desenvolupament de la investigació científica ha permès crear noves tècniques tals com la **immunoteràpia**; basada en l'estimulació dels sistemes de defensa del cos, limfòcits assassins i anticossos específics, o la **teràpia gènica**; ús d'un vector (virus) portador d'un gen capaç d'inserir-se en el genoma de les cèl·lules canceroses i aturar la seva divisió descontrolada.

5.2 La quimioteràpia

5.2.1 Conceptes bàsics

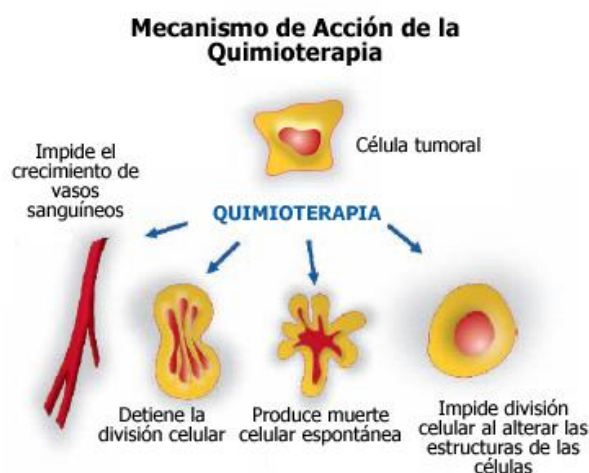
La quimioteràpia és un dels tractaments més eficaços que existeixen contra el càncer i un dels més utilitzats. Consisteix en l'administració de fàrmacs antineoplàstics, – medicaments que actuen sobre les neoplàsies malignes de l'organisme, també anomenades tumors – altament citotòxics que tenen la funció de destruir i eliminar les cèl·lules cancerígenes.

En funció de la sensibilitat en aquest tractament, els tumors es poden classificar en tres grups:

- ❖ **Quimiosensibles:** si l'eficàcia supera el 50% dels casos (càncer de mama o pròstata).
- ❖ **Quimioresistents:** si el resultat del tractament és efectiu en menys de la meitat dels pacients i la supervivència no augmenta significativament amb aquest (melanoma o càncer de pàncrees i ronyó).
- ❖ **Quimiocurables:** comprèn aquells que poden curar-se íntegrament amb l'ús d'aquesta tècnica (Limfoma de Hodgkin o carcinoma de testicle).

Per tal d'entendre en què es fonamenta la quimioteràpia i quin és el seu mecanisme d'acció es mostra la següent figura representativa de la funcionalitat d'aquesta tècnica terapèutica.

Figura 9. Mecanisme d'acció de la quimioteràpia



5.2.2 Inconvenients

Entre els nombrosos problemes que presenta l'ús perllongat de la quimioteràpia trobem que freqüentment, la seva efectivitat es veu limitada per la intensitat dels efectes secundaris que obliga a reduir el nombre d'administracions i allargar la durada del tractament.

S'ha cregut necessari ampliar l'explicació d'aquest apartat per tal de comentar altres qüestions de caire més científic, relacionades amb aquest tema que potser, a nivell comú, no són tan conegudes com els nombrosos efectes secundaris que provoca en els pacients afectats i, que no per aquest fet deixen de ser menys rellevants, sinó ben al contrari.

Els problemes i inconvenients més significatius que resulten de la utilització d'aquest tractament com a teràpia mèdica són els següents:

❖ Falta de selectivitat i elevada toxicitat:

Els fàrmacs anticancerígens que solen administrar-se en quimioteràpia no són prou específics ja que no es limiten a assolir solament la seva diana terapèutica - destruir les cèl·lules canceroses - sinó que també afecten les cèl·lules d'altres teixits que són sanes, desencadenant, d'aquesta manera, una sèrie d'efectes secundaris – tals com alopecia, vòmits...-. Els efectes secundaris han són deguts a l'atac dels fàrmac ja que en destruir les cèl·lules malignes han eliminat cèl·lules al seu torn, les cèl·lules bones i necessàries per al funcionament de l'organisme.

A causa d'aquesta manca de selectivitat els fàrmacs són altament citotòxics, ja que no són prou específics del cicle de divisió cel·lular de cada cèl·lula, és a dir, no hi intervenen, i per tant, destrueixen cèl·lules canceroses en qualsevol estadi del cicle. D'aquesta manera es pot dir que aquests fàrmacs serien molt efectius, ja que al ser tan tòxics, destruirien totes les cèl·lules malignes. L'inconvenient, però, és que la seva toxicitat és tan extremadament elevada que afecten també les cèl·lules sanes d'altres teixits, ocasionant greus efectes secundaris molt desagradables per als pacients.

❖ Resistència als agents quimioterapèutics:

Les cèl·lules tumorals presents en l'organisme tenen la capacitat, mitjançant mecanismes genètics molt complexos, de desenvolupar resistència contra l'acció dels fàrmacs, augmentant la seva supervivència i accelerant el procés de proliferació.

Per aquest motiu, fa temps que la comunitat científica es dedica a la investigació de nous fàrmacs capaços de frenar la forta oposició que presenten aquest tipus de cèl·lules.

S'ha descobert que la combinació de dos fàrmacs efectius produeix una capacitat de destrucció de cèl·lules malignes més elevada, que retarda o impedeix la resistència de les cèl·lules malignes a l'acció d'aquests fàrmacs amb més rapidesa que no pas si només s'usa un de sol. L'inconvenient de la teràpia combinada, però, és que les dosis i l'efectivitat dels dos fàrmacs han de ser iguals, sinó es destrueixen menys cèl·lules tumorals ja que s'ha disminuït la dosi del fàrmac més efectiu en fer la combinació.

6. CONCLUSIONS I FUTUR DEL CÀNCER

Un cop s'han analitzat les principals dificultats que presenta la quimioteràpia actual es pot arribar a la conclusió que, en un futur, el tractament oncològic s'hauria de centrar en la investigació de nous fàrmacs i noves tècniques terapèutiques capaces de reduir i disminuir considerablement la toxicitat i la resistència de les cèl·lules tumorals envers aquests. Els fàrmacs haurien de ser menys invasius i més efectius per tal que s'augmentés la resposta clínica i la selectivitat.

D'altra banda, vist que els efectes que es deriven de l'ús d'aquests tractaments són tan agressius i danyosos per l'organisme del pacient afectat, a continuació, es presenta un apartat extens dedicat a l'anàlisi i l'explicació dels altres mètodes i teràpies alternatius que existeixen per combatre la malaltia.

Amb aquest fet, es tanca un capítol important d'aquest treball; tota la part que fa referència al càncer i a les diverses qüestions més significatives relacionades amb aquest. A partir d'aquest moment, el treball farà incidència en el món dels productes naturals, tals com les fruites, verdures i plantes medicinals, com a font de nutrients i vitamines necessàries per l'organisme que proporcionaran a les cèl·lules sanes del nostre cos mecanismes pal·liatius de defensa per combatre l'atac de les cèl·lules cancerígenes.

II. LA NUTRICIÓ, LA MILLOR PREVENCIÓ CONTRA EL CÀNCER

1. INTRODUCCIÓ A UN NOU CONCEPTE DE TRACTAMENT

La utilització de tècniques i tractaments convencionals per fer front al càncer comporta importants efectes perjudicials per a la salut del pacient afectat per tal que es pugui arribar a combatre la malaltia. En alguns casos, però, aquests tractaments no garanteixen la total curació ja que no són prou eficaços.

Per aquest motiu, davant l'increment progressiu de les morts per càncer a la dècada dels cinquanta i seixanta, un cop acabada la revolució química deguda a l'esclat de la Segona Guerra Mundial a Europa, diversos grups científics que es dedicaven a la recerca de medicaments contra el càncer es van proposar buscar la manera d'utilitzar productes menys agressius que els que havien utilitzat fins llavors, i que tinguessin a més a més, la capacitat de destruir les cèl·lules malignes. Era un objectiu difícil i complicat, un repte molt important per la ciència que s'ha allargat fins als temps actuals i, que encara no ha acabat.

Durant aquests anys s'ha descobert moltes coses interessants que en aquella època es creien impossibles gràcies principalment, a la feina de milers d'investigadors que han posat tots els seus esforços en la recerca d'aquesta malaltia tan desconeguda, i sobretot a l'aparició de les noves tecnologies, que han permès que tot aquest procés es pogués realitzar i, que han obert les portes de la curació del càncer cap a una altra dimensió de la medicina.

El remei, la solució, però, no el van trobar al laboratori -entremig de productes químics, substàncies tòxiques i elements nocius per l'ésser humà- sinó ben al contrari. Els científics s'han hagut de trencar la closca i invertir moltes hores de treball per descobrir finalment, que el recurs es trobava a la naturalesa, aquell indret que inclou tot allò que existeix en l'univers – éssers vius, àtoms, cèl·lules, muntanyes, fenòmens físics, planetes... – en fi, tot allò que ens envolta i que no és fictici ni artificial, el lloc on es produeix la vida, on els elements es troben en el seu caràcter més pur i natural.

En relació amb els objectius citats, el treball es proposa conèixer i analitzar les diferents teràpies naturals i alternatives que existeixen.

1.1 Agents quimioterapèutics naturals

A diferència dels agents quimioterapèutics clàssics - com els antimetabòlits o antimitòtics - que són produïts artificialment en un laboratori, i que el seu principi actiu és una substància química altament citotòxica, com el *metotrexat*[®] (MTX) -principal fàrmac utilitzat en quimioteràpia- n'existeixen d'altres que utilitzen com a principi actiu substàncies extretes de manera natural en plantes i arbres.

El procés pel qual els investigadors van arribar a la conclusió que alguns extractes de plantes eren vàlides pel tractament del càncer, però, va ser molt lent i costós ja que fins que no es va demostrar la seva efectivitat es van haver de realitzar centenars de proves i anàlisis científics.

Finalment però, es van trobar, i actualment els dos principals productes terapèutics naturals i comercials que existeixen per combatre el càncer i, que a diferència dels clàssics, actuen sobre la mitosi cel·lular sense danyar l'ADN són els alcaloides de la vinca, i els taxans.

1.1.1 Alcaloides de la vinca

Els alcaloides de la vinca són fàrmacs antineoplàstics, és a dir, substàncies que inhibeixen la capacitat de les cèl·lules tumorals de dividir-se. El seu principi actiu és extret d'una planta anomenada Vinca de Madagascar, de l'espècie *Catharanthus roseus*, un arbust de flors violetes que es cultiva tan com a planta medicinal, degut a les seves propietats anticancerígenes, i per combatre altres malalties com la diabetis, tan com per a funcions ornamentals i decoratives.

Els fàrmacs comercials derivats de la vinca que s'han utilitzat per tractar certs tipus de càncer, com la leucèmia aguda, el limfoma de Hodgkin o el càncer de mama, són la *Vincristina*[®] i la *Vinblastina*[®]. Aquests però, malgrat ser d'origen vegetal també presenten greus efectes secundaris, tals com alopecia, vòmits..etc, i són desaconsellats pels professionals ja que presenten una elevada neurotoxicitat.



Figura 10. Flor de la Vinca de Madagascar

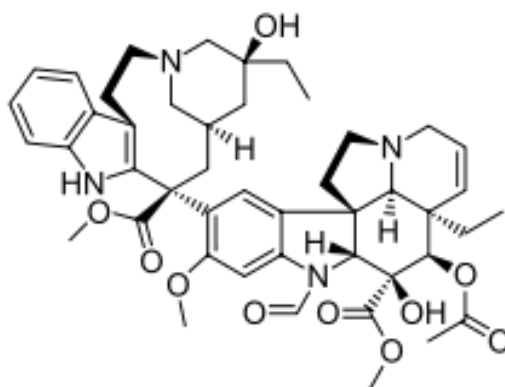


Figura 11. Estructura de química de la Vincristina[®]

1.1.2 Taxans

Amb les mateixes propietats que els alcaloides de la Vinca, els taxans són un grup de fàrmacs pertanyents al grup químic dels terpens- lípids insaponificables derivats de la molècula d'isoprè que es troben a la natura en els teixos, arbres conífers de la família *Taxaceae* i del gènere *Taxus*, propis de les zones muntanyoses.

Els fàrmacs comercials que han sigut sintetitzats al laboratori són el *Paclitaxel*[®] i el *Docetaxel*[®].

L'inconvenient però, d'utilitzar aquests fàrmacs com a antineoplàstics és que els fruits vermells que produeix el teix són molt verinosos, i per tant, els medicaments també ho són. Quan aquests entren en contacte amb l'organisme són molt efectius per eliminar les cèl·lules canceroses, però també ho són per a les sanes.

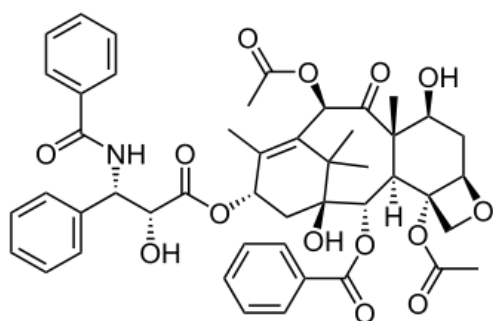


Figura 13. Estructura del Paclitaxel[®]



Figura 14. L'arbust del teix

1.2 Canvi d'estratègia

Vist que els fàrmacs que tenen com a principi actiu una substància d'origen natural tampoc no són gaire més selectius i la seva toxicitat no és menys elevada que els agents quimioterapèutics clàssics, es decideix abordar el tractament del càncer des d'un altre punt de vista, un altre món de la ciència, els productes naturals com a font de substàncies antitumorals.

Primerament es tractarà què són els compostos fitoquímics, aquells que permeten realitzar la fitoteràpia -tractament mèdic i teràpia natural basat en l'ús de plantes, herbes i altres substàncies vegetals per tal de prevenir l'aparició de patologies i malalties – que servirà de pauta inicial per introduir un dels temes fonamentals que s'inclouen en la part teòrica d'aquest treball, els antioxidants.

D'aquesta manera, ja que la curació total i absoluta del càncer i l'ús de fàrmacs naturals per combatre'l no és massa eficaç, es decideix atacar el problema d'aquesta malaltia des d'una altra via: la de la prevenció, és a dir, la previsió, la reducció del risc i de les probabilitats de contraure un tumor a través de l'alimentació.

S'obre doncs, un nou apartat que portarà directament cap al nucli central, el qual es proposa arribar en aquest treball: l'existència d'un àcid present en els fruits vermells amb nombroses propietats antitumorals i antioxidants, l'Àcid El·làgic.

2. ELS ALIMENTS COM A FONT DE SUBSTÀNCIES ANTITUMORALS

2.1 Els compostos fitoquímics

Preveure un dany o un perill per tal evitar-lo i impedir-ne els efectes, és la definició exacta que apareix al diccionari per descriure el mot prevenir.

En el món de la medicina, aquesta paraula ha incrementat considerablement la seva aparició en les recerques i les investigacions científiques dels últims anys, en detriment d'una altra, curació, ja que a falta de recursos escaients i exclusius per combatre una malaltia, sigui el càncer o qualsevol altra, la prevenció ha esdevingut una arma molt important.

Un dels responsables principals de la prevenció contra el càncer i altres malalties de forma natural són els fitoquímics, també anomenats compostos bioactius, que es defineixen com aquelles substàncies presents, de forma natural en diversos aliments i plantes d'origen vegetal, o bé aliments derivats dels animals, que tenen una activitat biològica important en l'organisme.

Encara que no se'ls consideri com a nutrients essencials - no poden ser sintetitzats pel propi organisme - els fitoquímics, resulten ser substàncies beneficioses per la nostra salut, ja que posseeixen diverses propietats, compartides amb els antioxidants.



Figura 15. Fruïtes i verdures riques en fitoquímics

2.2 Els antioxidants

2.2.1 Introducció

No es pot parlar de la prevenció del càncer sense esmentar els famosos antioxidants, aquest tipus de compostos químics que últimament estan tan de moda en qüestions de nutrició i dietes miraculoses contra l'envelliment, i que com els fitoquímics, també es troben de forma natural en els aliments i les plantes medicinals, i per tant, tenen un paper molt important en la prevenció del càncer.

Qui més qui menys n'ha sentit parlar, ni que sigui per casualitat, però, realment tothom sap a què es refereixen els especialistes quan anomenen aquesta paraula? Tenim coneixement, per exemple, de què significa o quines propietats tenen els antioxidants contra els processos d'envelliment i l'estrès oxidatiu o a favor de la prevenció del càncer?

Per tal de respondre a aquestes sèrie de qüestions tan simples i elementals que qualsevol es pot preguntar sobre aquest tema d'actualitat científica, un dels objectius fonamentals del nostre treball és analitzar específicament, què són els antioxidants, com actuen en l'organisme, de quins tipus n'hi ha, o bé en quins aliments es troben.

2.2.2 Definició

Existeixen diverses definicions sobre el concepte d'antioxidant, tot i que la més fiable és aquella que van pronunciar els científics Barry Halliwell i John M.C. Gutteridge (*Free Radicals in Biology and Medicine*, 1998), dos dels principals investigadors que han estudiat els antioxidants durant dècades.

Així doncs, defineixen els antioxidants com aquella molècula o grup de molècules que, quan es troben en concentracions baixes respecte a les del seu substrat oxidable – principalment biomolècules (glúcids, lípids, proteïnes o àcids nucleics)- retarden o prevenen l'oxidació d'aquest.

Expressat d'aquesta manera, pot semblar un concepte complicat i difícil d'entendre, tot i que no ho és gens. Basant-nos en la definició estricta, els antioxidants són aquell grup extens de compostos bioquímics - tals com enzims, vitamines, àcids orgànics o pigments naturals - que tenen com a funció bàsica i primordial, evitar, neutralitzar, i si és possible, eliminar les diverses substàncies i espècies químiques reactives, especialment, radicals lliures, per tal que els orgànuls cel·lulars, necessaris per mantenir les funcions vitals d'una cèl·lula, no es vegin danyats ni afectats per l'atac d'aquests.

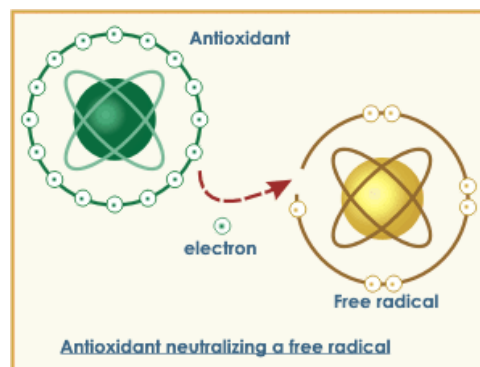


Figura 16. Acció d'una molècula antioxidant sobre un radical lliure

2.2.3 Propietats

Els centenars d'estudis científics que s'han realitzat al llarg del segle XX sobre els antioxidants, han demostrat que, més enllà de les incipients hipòtesis inicials que determinaven que les úniques qualitats que presentaven eren contra l'envelliment cel·lular, els antioxidants, han passat de ser considerats com a simples molècules "caçadores de radicals lliures " a convertir-se en una veritable revolució científica, degut principalment, a les nombroses propietats terapèutiques i beneficioses per a la salut humana. D'aquesta manera, actualment, la paraula antioxidant ja es considera com a <<grup de molècules, el consum regular de les quals seria sinònim de salut >>.

Per aquest motiu, cal veure l'efecte i la incidència que aquestes substàncies tenen en relació amb el cos humà, les malalties i els processos biològics d'aquest. Algunes de les propietats més significatives i rellevants tenen a veure amb el càncer, tot i que, principalment, són generals per a tota tipus de malalties.

- ❖ Actuen com a inhibidors i supressors dels enzims que activen els agents carcinògens. També ho fan com a antitumorals, protegint la supervivència del DNA del dany oxidatiu, i impedit la modificació, i per tant, la mutació de les bases nitrogenades, que acabarien desencadenant l'aparició d'un càncer.
- ❖ Neutralitzen l'acció dels radicals lliures que provoquen l'estrès oxidatiu, convertint aquests en substàncies menys agressives abans que puguin reaccionar amb les molècules sanes de l'organisme i ocasionar greus conseqüències per a la vida cel·lular.
- ❖ Activen els processos metabòlics de detoxificació de drogues, toxines i altres substàncies perjudicials.
- ❖ Augmenten la immunitat, és a dir la capacitat del sistema defensiu del nostre organisme per fer front a l'atac de les cèl·lules tumorals, i evitar-ne o retardar-ne la seva expansió.
- ❖ Redueixen i pal·lien els efectes secundaris que produeix el tractament quimioterapèutic d'aquesta malaltia, fent referència a l'alleugeriment del dolor, per tal de contrarestar-lo.

- ❖ Disminueixen el risc de patir malalties cardiovasculars, reduint la concentració de les lipoproteïnes de baixa densitat (LDL) que transporten el colesterol “dolent” en sang.
- ❖ Prevenen l'aparició de malalties neurodegeneratives, tals com l'Alzheimer o el Pàrkinson, o bé d'altres com el VIH-Sida (Immunodeficiència humana).
- ❖ Retarden els processos d'envelliment i per tant, augmenten l'esperança de vida.

Convé recordar, però, que seguint únicament uns hàbits alimentaris adequats, que inclouen la ingesta regular d'aliments rics amb antioxidants i fitoquímics, la nutrició, per si sola no podrà aconseguir la total curació de malalties, com el càncer o les cardiovasculars. L'elevada complexitat d'aquestes, fa que s'hagi de combinar el tractament natural amb el convencional, realitzat i supervisat per especialistes.

Tanmateix, però, els compostos rics en antioxidants si que tenen especial importància i un paper considerable en la prevenció i la reducció del risc de patir aquestes malalties, ja que segons diversos estudis realitzats, es creu que entre el 35% i el 60% dels càncers que es diagnostiquen actualment són causats pels mals hàbits alimentaris. Per tant, si es duu una estil de vida saludable i una dieta equilibrada aquestes xifres es podrien reduir substancialment.

2.2.4 Els radicals lliures

Abans d'entrar en la classificació dels grups d'antioxidants més importants, no se'n pot fer referència sense esmentar un concepte que ha aparegut indirectament en la definició anterior, i que és fonamentalment el principal causant pel qual els antioxidants existeixen, els radicals lliures.

Des del punt de vista químic, un radical lliure és aquella molècula, àtom o ió, que presenta inestabilitat i una elevada reactivitat, degut a que en la seva configuració electrònica, conté un electró lliure, sol, que necessita combinar-se per tal d'aconseguir l'estabilitat necessària. Generalment, la parella a la qual s'uneixen solen ser les biomolècules.

La formació d'aquests compostos causa greus estralls en les cèl·lules afectades, però no està només relacionada amb l'exposició del nostre cos als agents externs, com el tabac o la contaminació, sinó que el propi organisme també en produeix en quantitats moderades, per tal de fer front a processos inflamatoris. Poden esdevenir també substàncies derivades de les vies metabòliques.

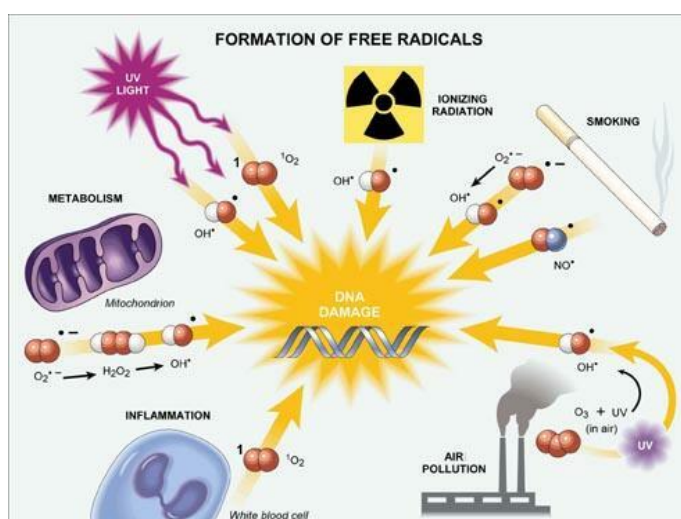


Figura 17. Agents que induïxen la formació del radicals lliures

2.2.5 Classificació

Els científics han determinat, mitjançant diversos estudis realitzats en els últims anys, que existeixen més de 5000 espècies d'antioxidants diferents, presents solament en aliments, principalment fruites i verdures.

Si ens parem a pensar que hi ha altres compostos naturals - com les plantes medicinals, les herbes aromàtiques, o bé d'altres vegetals, desconeguts per la nostra cultura gastronòmica, ja que són d'origen oriental – que també són identificats com a tals, la classificació d'antioxidants seria estratosfèrica, extremadament extensa.

Per aquest motiu, com que l'estudi d'aquests no és el principal objectiu del treball, s'esmentaran només els més bàsics i essencials. Entre aquests grups, es troben els polifenols, compostos orgànics que exhibeixen una elevada activitat antioxidant, i que inclouen l'Àcid El·làgic.

Encara que existeixin diverses formes de classificar-los, una bona manera de fer-ho és a partir de l'origen del qual provenen. Així doncs, es distingeixen entre els que són sintetitzats pel propi organisme, també anomenats endògens, o bé els que s'ingereixen a través de la dieta, exògens.

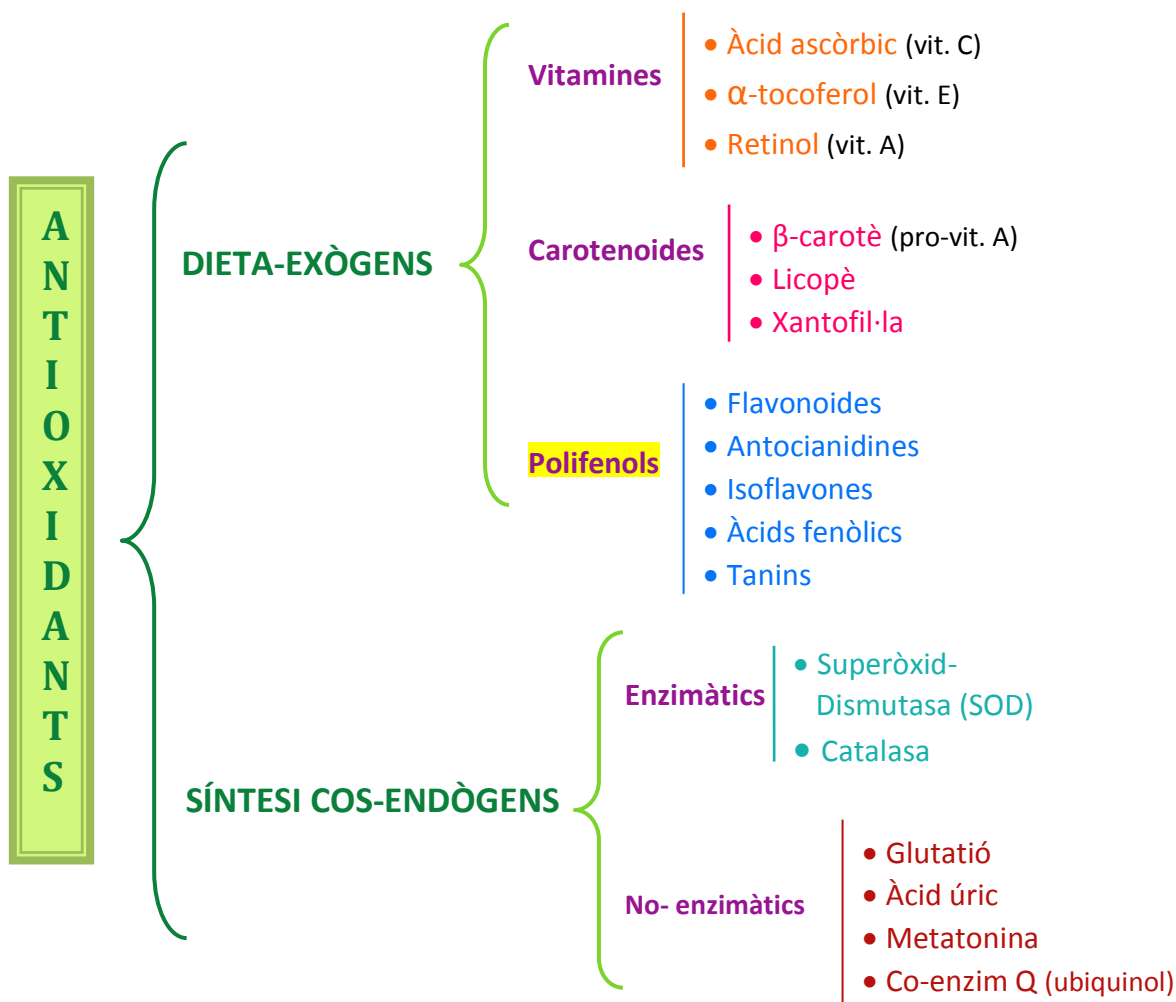


Figura 18. Mapa conceptual de la classificació dels principals grups antioxidants

2.2.6 Principals aliments

Tot i que seria interessant estudiar detalladament, un per un, els diversos grups d'antioxidants, convé que centrar-se en un de sol, els polifenols, per tal d'analitzar les característiques bàsiques d'aquests.

Tot seguit, es mostra de forma gràfica alguns dels aliments amb major potencial antioxidant més representatius, juntament amb les seves estructures químiques corresponents.

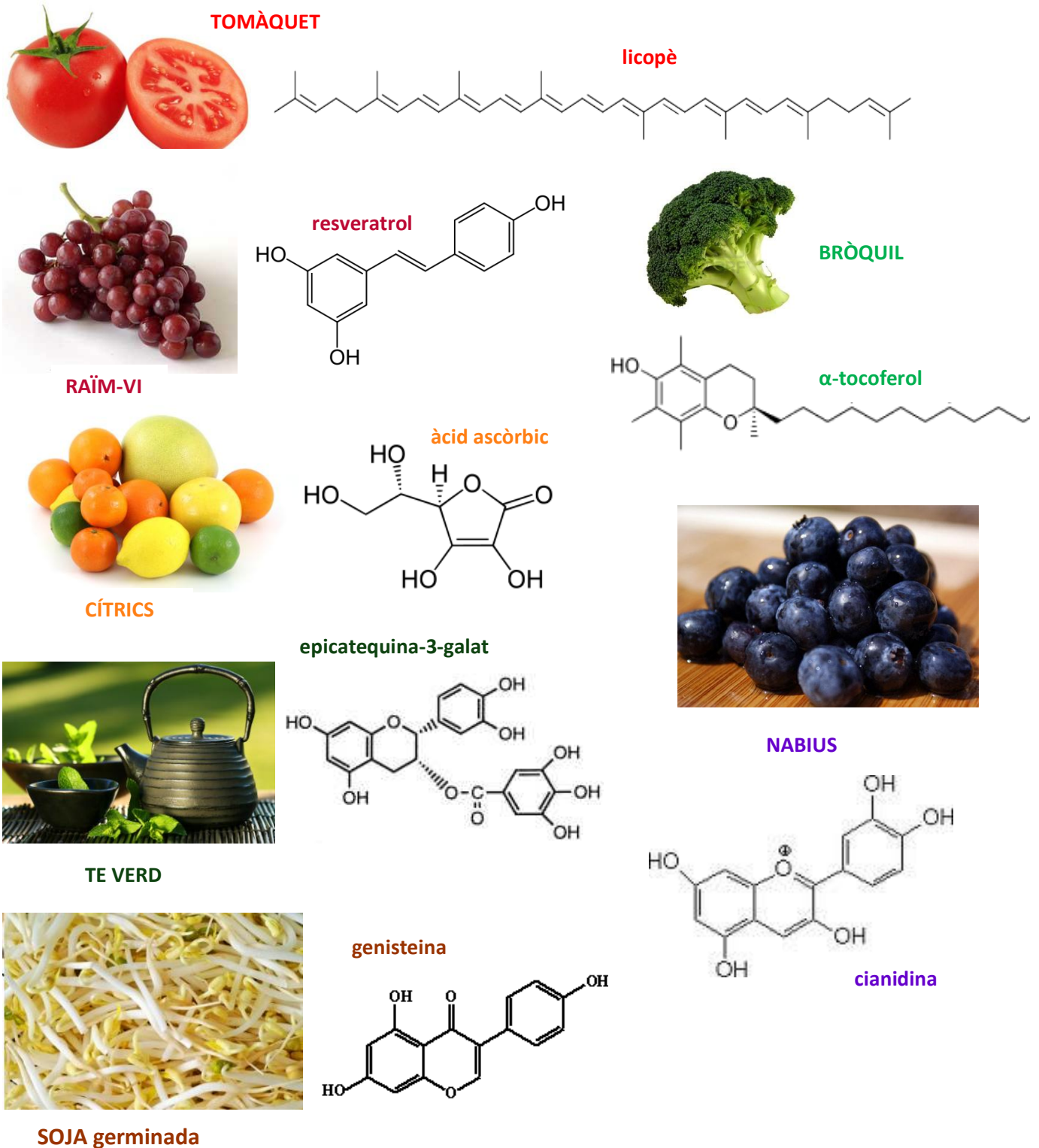


Figura 19. Esquema gràfic d'algunes substàncies antioxidants

2.3.1 Definició

Aquest grup presenta una importància especial en el nostre treball i destaca en el marc dels diferents grups antioxidants, ja sigui per la seva abundància o bé, per la seva reconeguda bioactivitat.

Des del punt de vista químic, es defineixen com aquell grup de compostos orgànics que presenten en la seva estructura un o més grups fenols, és a dir, grups hidroxil (-OH) units a un anell aromàtic. Biològicament, són considerats com un tipus de substàncies químiques sintetitzades per les plantes, que no intervenen directament en el metabolisme primari d'aquestes i que per tant, no compleixen funcions essencials en elles. Simplement són excretats per aquestes en forma de metabòlits secundaris.

Segons els botànics, la seva extensa varietat i heterogeneïtat – n'existeixen més de 8.000 tipus classificats - els hi proporcionen, malgrat no siguin indispensables en el cicle vital de les plantes, diverses funcions atribuïdes als mecanismes de defensa utilitzats per aquestes, com per exemple: molts actuen com a neutralitzadors dels atacs dels herbívors, dispersen els fruits i atrauen el pol·len, o bé, absorbeixen les radiacions ultraviolades.

A més a més, es poden trobar en qualsevol de les parts d'aquestes, ja sigui a les fulles, les arrels, els fruits o les llavors, no són exclusius d'una regió en concret.

2.3.2 Propietats

Si bé s'ha demostrat que tots els compostos polifenòlics presenten una elevada activitat antioxidant – de fet, són considerats com a tals i per tant, les propietats són semblants – s'ha determinat també, que alguns, entre els quals es troba l'Àcid El·làgic, a més a més, posseeixen propietats antiinflamatòries, antimicrobianes, antimutagèniques, antiagregants plaquetàries o vasodilatadores, entre d'altres.

Per aquest motiu, es considera que els polifenols estan molt relacionats, a més del càncer, també amb la prevenció i el desenvolupament de malalties cardiovasculars.

A continuació, es mostra un esquema dels principals grups polifenòlics que existeixen:

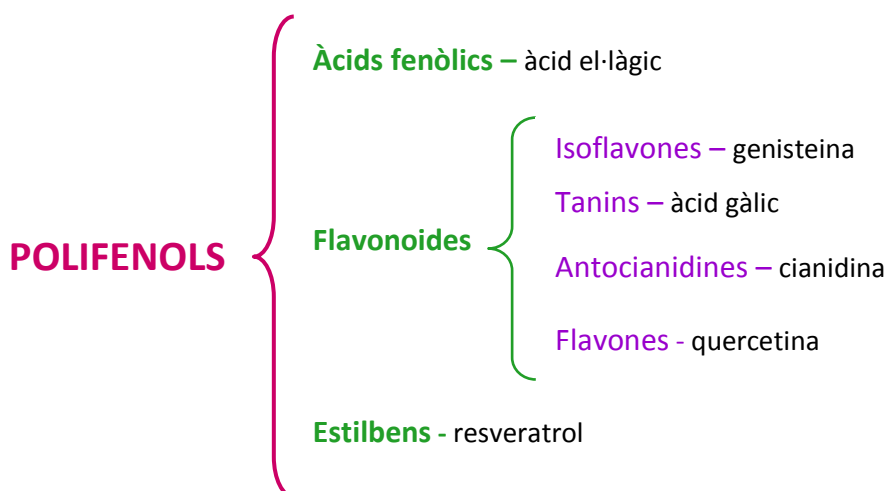


Figura 20. Classificació dels compostos polifenòlics

3. CONCLUSIONS

Un cop feta ja l'aproximació necessària per entendre conceptes posteriors als compostos antioxidants i polifenòlics, es pot dir que s'ha tancat el segon capítol important de la part teòrica del treball, que ens dirigeix finalment, a l'element, el nucli, la peça fonamental, que acabarà d'arrodonir i de sintetitzar totes les qüestions, arguments i temes exposats fins al moment.

Com ja s'ha anat explicant al llarg de la part teòrica, l'objectiu pel qual aquesta es realitzava era principalment en una única direcció: la d'arribar al component principal i primordial pel qual va néixer aquest treball, el famós Àcid El·làgic, del qual n'hem parlat tant, però del que encara no en sabem gran cosa.

Per dir-ho d'alguna manera, l'Àcid El·làgic serà "la cirereta del pastís" que conclourà la part teòrica del treball i que obrirà, al mateix temps, la porta a l'experimental.

III. L'ÀCID EL·LÀGIC, L'ANTITUMORAL NATURAL PER COMBATRE EL CÀNCER

1. EL DESCOBRIMENT CIENTÍFIC QUE HA REVOLUCIONAT EL FUTUR DEL CÀNCER

1. Introducció

1.1.1 Conceptes previs

Per fer-nos una idea general sobre què és l'Àcid El·làgic, es pot dir, segons diverses fonts científiques fiables, que és un dels descobriments més importants realitzats en la última dècada. Per fer palès el paper destacat que té actualment en el món de la investigació i l'interès que suscita entre la comunitat científica, i cada vegada més, entre la població en general, només cal dir que en els últims tres anys s'han publicat més de 350 articles i estudis relacionats amb aquest tema.

1.1.2 Definició

Segons la definició publicada per la *Societat Americana del Càncer (ACS)* en el llibre *Complementary and alternative cancer methods*, l'Àcid El·làgic és aquell compost polifenòlic, present en diverses fruites – sobretot en les vermelles i les del bosc- que exhibeix una gran capacitat antioxidant i antitumoral en els humans, fet que li proporciona actuar com un dels principals elements preventius contra l'aparició d'un càncer. Per tant, se'l reconeix com una substància beneficiosa per a la salut humana, ja que també presenta nombroses activitats biològiques relacionades amb la reducció del risc de contraure d'altres malalties, principalment les cardiovasculars.

Cal dir però, que la seva acció en l'organisme, en cap cas, cura ni eradica per complet un càncer, simplement és una teràpia alternativa que s'ha de combinar adequadament amb les convencionals i que ha de ser supervisada i autoritzada per un especialista.

Les propietats que poseeix, malgrat s'hagin demostrat en diversos estudis realitzats al laboratori tant de forma "*in vitro*", utilitzant cultius de cèl·lules canceroses, com "*in vivo*" amb animals que presentaven algun tumor, no són del tot verdares ni fiables, són incipients i escasses, ja que es necessiten més investigacions, proves i resultats científics perquè es puguin confirmar i corroborar totalment.

Tanmateix, el seu futur terapèutic és molt prometedor i obra una nova via alternativa per al tractament del càncer en el camp de la medicina.

1.1.3 Estructura

L'Àcid El·làgic pertany a la família dels polifenols, i més concretament als àcids fenòlics, on trobem també d'altres que no són tan coneguts.

Des del punt de vista químic, el podem definir com un derivat dimèric de l'àcid gàl·lic ja que és format a partir de dos molècules d'aquest.

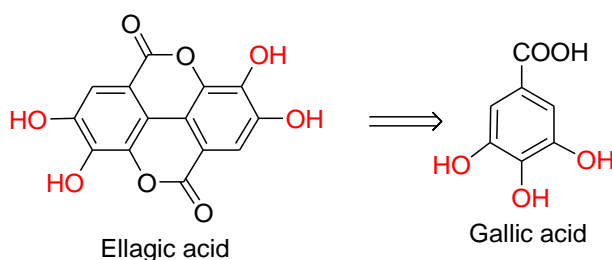


Figura 21. Estructures químiques de l'Àcid El·làgic i l'Àcid Gàl·lic

1.2 Propietats

Les propietats i els beneficis per la salut que presenta l'Àcid El·làgic no es redueixen solament al terreny que fa referència al càncer i a totes les qüestions que se'n deriven, sinó que posseeix també altres mecanismes de prevenció que inclouen i abasten moltes més malalties.

Per aquest motiu, s'ha cregut necessari prioritzar les activitats biològiques més importants que es relacionen amb el treball – evidentment les anticancerígenes i antitumorals – i explicar-les cadascuna de breument.

1.2.1 Antitumorals

En relació amb els diversos processos i mecanismes que desencadenen l'aparició d'un càncer, l'Àcid El·làgic presenta les següents propietats:

- ❖ **Antiproliferatives:** inhibeix els gens encarregats de promocionar el creixement descontrolat, estimulants els gens d'antiproliferació que aturen la divisió accelerada de les cèl·lules alterades. A més a més, induïx els factors i enzims de creixement específics per tal que es produeixi la diferenciació cel·lular i les cèl·lules quedin aïllades i contingudes solament en el teixit d'origen.
- ❖ **Antiangiogèniques:** es mostra com un agent químic que permet que les cèl·lules malignes no adquireixin l'últim estadi, els vasos sanguinis, que les ajudaran a disseminar-se a altres parts del cos a través del torrent sanguini, produint metàstasi, que afectarà per tant, altres òrgans vitals sans. Si no es produeix la formació de nous vasos sanguinis, angiogènesi, l'expansió del tumor es reduirà considerablement.
- ❖ **Apoptosi:** una de les propietats més importants és aquesta ja que estimula els mecanismes cel·lulars interns que induïxen a la mort cel·lular "programada", apoptosi, de les cèl·lules canceroses sense afectar les sanes.

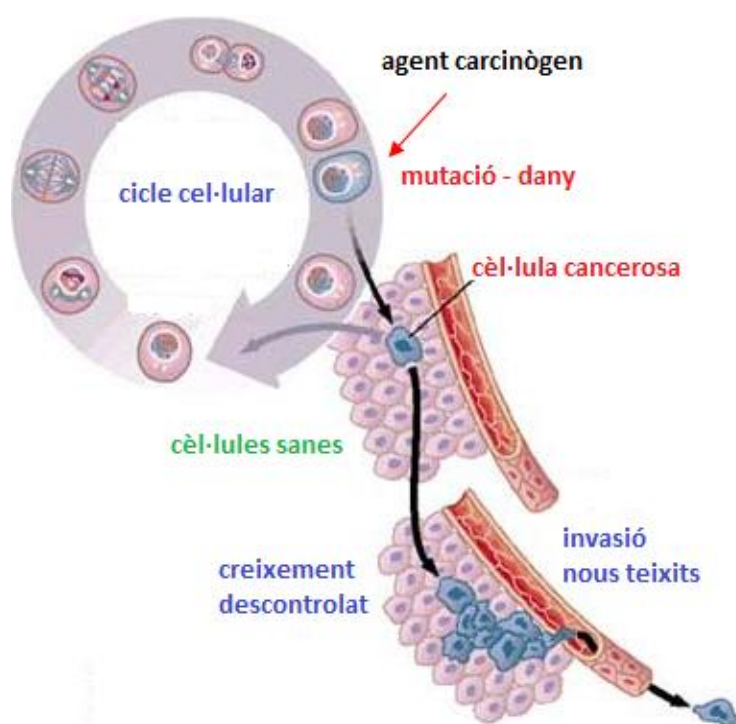


Figura 22. Evolució d'una cèl·lula tumoral

- ❖ **Antimutagèniques i reparadores:** protegeix el gen p53 – gen supressor de tumors present en totes les cèl·lules que vetlla per la integritat del DNA – del dany provocat pels radicals lliures, per tal que s'activi i doni senyals d'alerta per aturar la divisió incontrolada de la cèl·lula mutada.

D'altra banda, si ja s'ha produït la mutació – sigui per l'acció dels agents carcinògens externs o interns i per tant, la modificació de les bases nitrogenades, activa els mecanismes cel·lulars de reparació del DNA danyat per tal que es corregeixin i la cèl·lula no s'hagi vist afectada.

- ❖ **Antioxidants:** ja que és considerat com a tal, l'Àcid El·làgic neutralitza i protegeix amb eficàcia les cèl·lules del cos dels forts atacs dels radicals lliures d'oxigen, que són altament destructius per a elles, en les quals causen greus estralls, a vegades irreparables.

1.2.2 Altres

- ❖ **Dermatològiques:** prevé les capes més superficials de la pell que estan en contacte directe amb l'exterior dels agents carcinògens procedents de la llum ultraviolada solar que podrien provocar melanomes.
- ❖ **Hepàtiques:** promou la salut i el bon funcionament del fetge, desintoxicant-lo, eliminant les substàncies de rebuig i regulant les vies metabòliques.
- ❖ **Cardiovasculars:** fa disminuir l'acumulació de plaques d'ateroma a les artèries per tal que no es produeixin atacs o infarts cardíacs. A més a més, fa baixar els nivells del colesterol "dolent" (lipoproteïnes de baixa densitat LDL) en sang.
- ❖ **Neurodegeneratives:** prevé les cèl·lules del sistema nerviós de l'envelliment prematur i dels efectes que aquest pugui ocasionar. Redueix, per tant, el risc de patir malalties com l'Alzheimer o el Pàrkinson.

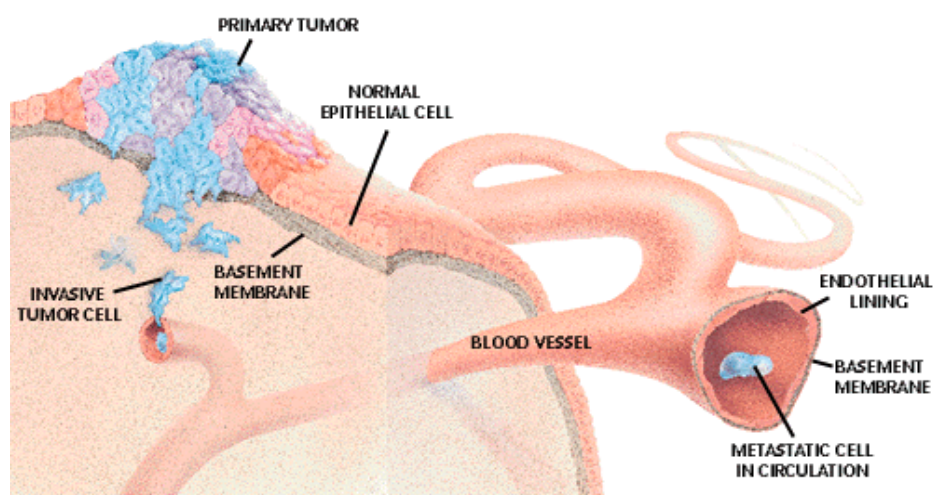


Figura 23. Procés d'invasió i vascularització d'un tumor

1.3 Aliments rics en Àcid El·làgic

L'única i exclusiva font a partir de la qual els humans podem adquirir grans quantitats d'Àcid El·làgic és a través de la dieta, és a dir, consumint aliments que presentin una elevada concentració d'aquest.

Com en el cas dels antioxidants, les fruites i hortalisses encapçalen el rànquing dels aliments amb major presència. Cal dir, però, que no tots els vegetals contenen aquesta substància, i que les concentracions varien depenent de les característiques morfològiques - el tipus, la mida, el grau de maduració... -o bé, de les químiques i biològiques (presència d'antioxidants, de pigments fotosintètics, sucres...).

En els vegetals, el podem trobar de tres maneres i estructures químiques diferents; de forma lliure com a glicòsid, és a dir, combinat amb sucres com la glucosa – és la forma més habitual - o bé, com a elagitanin, èster de l'àcid hexahidroxidifènic

Així doncs, basant-nos en els diversos estudis científics que ho corroboren, els aliments que s'han determinat com a principals fonts d'Àcid El·làgic són els fruits vermells i del bosc, tot i que en les nous i d'altres fruits secs, també n'hi trobem però en menor quantitat.

D'aquesta manera, en els primers llocs de la classificació destaquen les maduixes, els gerds, les mangranes i els nabius, en els quals l'Àcid El·làgic constitueix més del 85% de quantitat total d'aquests fruits. En un segona posició hi són presents les móres, les groselles o bé, les cireres.



Figura 24. Fruits vermells i del bosc



Figura 25. Nous

Per tal de veure-ho de forma gràfica, la taula que es mostra a continuació és representativa de la quantitat d'àcid el·làgic que contenen les principals fruites, ja esmentades, així com també el nombre d'antioxidants i antiocianines - pigment vegetal fotosintètic- ja que aquests dos conceptes estan molt lligats als compostos polifenòlics i per tant, a l'àcid el·làgic.

ALIMENTS	Àcid El·làgic (µg)	Antioxidants (TAC) *	Antiocianines (mg)
Gerds	1500	9.430	10-84
Maduixes	630	5.348	15-75
Nous	590	5.792	–
Mangranes	330	4.216	11-68
Móres	120	3.580	89-211

Taula 1. Quantitat d'àcid el·làgic, antioxidants i antiocianines en fruits vermells i nous

* Unitat analítica de mesura específica d'antioxidants, TAC. Les seves sigles en anglès signifiquen (Total antioxidant capacity).

2. CONCLUSIONS I TANCAMENT D'UN CAPÍTOL

Al llarg del treball s'ha esmentat diverses vegades que totes les qüestions que s'explicaven sobre el càncer, els antioxidants o d'altres temes, tenien l'objectiu d'aproximar el lector a la figura de l'Àcid El·làgic.

Tots els temes tractats fins al moment han servit d'introducció, i s'han posat expressament perquè es creu necessari que abans d'anomenar per exemple, quines són les propietats antitumorals que presenta l'Àcid El·làgic, o bé, que aquest és un compost polifenòlic, s'ha de saber primer què volen dir aquests conceptes inicials per després poder-ne entendre d'altres de més complexos.

En el nostre cas, s'hi pot aplicar una frase feta que resumeix quins han estat els objectius assolits durant la part teòrica; "No es pot construir la casa per la teulada, es necessita una base, uns fonaments, i a partir dels quals s'aniran aixecant els pisos".

Per altra banda, es pot dir que l'Àcid El·làgic ha servit com a element d'enllaç entre les dues parts, ha esdevingut el nucli fonamental a partir del qual s'han unit i ha permès que no quedessin apartades l'una de l'altre, com si pertanyessin a dos treballs diferents.

En definitiva, un cop arribats a aquest punt del treball s'ha tancat una etapa però al mateix temps se n'obrirà una altra de nova. Per això, cal tenir present mentre s'analitzen els tres blocs principals de l'experimentació totes les qüestions que comentades en la introducció, per tal que la lectura del treball sigui fàcil i entenedora.

PART EXPERIMENTAL

I. OBJECTIUS

La part experimental d'aquest treball es proposa assolir tres grans objectius principals - corresponents als tres blocs a partir dels quals es basa i fonamenta aquesta recerca – que es duran a terme mitjançant la realització de diverses pràctiques al laboratori.

Primerament cal dir que les hipòtesis experimentals van ser plantejades en relació amb la part teòrica que fa referència al càncer, a les teràpies naturals i alternatives, a l'alimentació com a eina de prevenció i especialment, a l'eix principal a partir de la qual gira tot aquest treball, la figura de l'Àcid El·làgic.

1. Determinació de la presència d'àcid el·làgic en fruits vermells

En la primera part es durà a terme el procés d'extracció de l'Àcid El·làgic contingut en diferents mostres de fruits vermells, per tal de confirmar la seva presència i corroborar experimentalment els nombrosos articles i estudis científics que avalen l'existència d'aquest àcid en aquest tipus de fruits. Seguidament, un cop s'hagi demostrat que les mostres analitzades contenen Àcid El·làgic, es procedirà a fer la comparació dels resultats obtinguts i s'establiran unes conclusions en relació amb la quantitat obtinguda en cada cas.

S'analitzaran quatre tipus diferents de fruits vermells: les maduixes, els gerds, les groselles i les móres. Per fer-ho, s'utilitzaran fruits comprats al mercat, provinents de diferents territoris i fruits recollits directament del bosc, a partir dels quals, s'aprofitarà l'avinentesa per comparar si els que no han estat manipulats ni tractats amb productes químics, i que per tant, són més naturals, tenen una major presència d'àcid que no pas els que han passat per la mà de l'home.

2. Extracció de l'àcid el·làgic en fruits vermells

Pel que fa al segon bloc, aquest està molt lligat al primer ja que segons els resultats que obtinguts en la primera experiència, es podrà realitzar o no la segona. Per tant, es pot dir que s'obriran dues possibles vies d'experimentació, dos camins.

Per una banda, si es confirma la hipòtesi que els fruits analitzats contenen la presència d'Àcid El·làgic, en conseqüència durem a terme el procés d'extracció d'aquest. Aquesta segona fase inclourà la determinació de la quantitat exacta present en cada fruita analitzada i la comparació dels resultats obtinguts en relació amb els determinats pels investigadors. A partir d'aquest moment, el procés experimental seguirà endavant amb la realització de la tercera pràctica.

D'altra banda, si per contra els resultats no són els previstos, és a dir, es determina que les mostres no contenen Àcid El·làgic, la recerca experimental es donarà per acabada, i per tant, es finalitzarà.

3. Preparació de dos pro-fàrmacs amb diferents grups protectors

La tercera i última pràctica que es realitzarà consistirà en la preparació -mitjançant una reacció química i emprant tècniques de síntesis orgànica – d'un pro-fàrmac, utilitzant com a principi actiu la quantitat d'Àcid El·làgic extreta dels fruits vermells analitzats anteriorment.

Per fer-ho, s'empraran dos grups protectors diferents, un éster i un acetal, i s'analitzarà quin d'aquests és el que obtindrà una relació de biodisponibilitat més alta, és a dir, quin és el que recobrirà millor el fàrmac inactiu, quin afavorirà l'absorció...

En definitiva, es compararan diversos paràmetres farmacològics per tal de determinar quin dels dos pro-fàrmacs serà el més beneficiós i el que s'adequarà de forma més estricta a les necessitats de l'organisme.

II. DETERMINACIÓ DE LA PRESENCIA D'ÀCID EL·LÀGIC EN FRUITS VERMELLS

a) Objectiu

La següent pràctica té un objectiu únic i primordial: determinar si les mostres de fruites analitzades contenen la presència d'Àcid El·làgic. Per fer-ho, es sotmetran les mostres inicials a diverses tècniques analítiques per tal de reduir i eliminar qualsevol substància continguda en les fruites que impedeixi comprovar, única i exclusivament, si aquestes presenten l'àcid. Depenent dels resultats de les proves es realitzarà una segona fase experimental en què s'extraurà l'Àcid El·làgic del producte obtingut en la fase inicial.

b) Materials i reactius

- | | | |
|------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|
| - 3 matrassos de 250 mL | - Rotavapor | - Metanol (CH ₃ OH) 40 mL |
| - Placa de CCF de sílica gel | - Provena de 100 mL | - Àcid El·làgic comercial (10 mg) |
| - Làmpada de llum UV | - Balança de precisió | - Aigua destil·lada |
| - Placa de vidre fritat | - Dessecador | |
| - Aparell RMN H ¹ | - Espàtules | |
| - Màquina d'ultrasons | - Erlenmeyer/Kitasato | |

c) Conceptes previs

Abans de començar la primera etapa experimental al laboratori, cal tenir en compte una sèrie de qüestions teòriques que ajudaran a millorar el mètode de treball a seguir.

Diversos estudis científics demostrats han determinat que el tant per cent d'Àcid El·làgic contingut en les maduixes i els gerds -són les fruites que en posseeixen en major quantitat -només representa l'1% del contingut total d'aquesta fruita. La quantitat és ínfima, però encara és menor la que presenten altres fruits vermells com les groselles o les móres, en les quals l'Àcid El·làgic no arriba ni a aquesta xifra.

Per aquest motiu, s'haurà de seguir un mètode de treball al laboratori regular i constant basat en un control detallat de cada prova analítica realitzada, dels productes introduïts en cada cas i sobretot i importantíssim, caldrà anotar totes les variacions de massa que experimenta la mostra al llarg del procés. I és que al treballar amb quantitats tan petites, tota precaució és poca per tal d'assegurar qualitat i rigor científic al treball.

d) Protocol

El procés que es durà a terme per determinar la presència d'Àcid El·làgic en els diferents fruits vermells analitzats és sistemàtic i metòdic, però a la vegada molt lògic i inductiu. Per fer-ho, cal seguir una sèrie de passos, no gaire complicats ni dificultosos d'efectuar, però que sí que requereixen atenció i concentració permanent, ja que és fàcil equivocar-se. Les fases que conformen el procediment utilitzat són les següents:

1. Per començar, s'agafaran les mostres de fruita i es rentaran amb aigua per tal de treure les impureses i brutícies que puguin tenir. Seguidament, s'eixugaran i es deixaran sobre un paper de filtre perquè s'assequin i absorbeixin tota l'aigua.
2. A continuació, s'agafarà un matràs de 250 mL i es tararà (**P₁**). Es procedirà a tallar la fruita en trossets molt petits i s'afegirà a l'interior d'aquest. Finalment, es tornarà a pesar (**P₂**). Després, s'introduiran 40 mL de Metanol (CH₃OH), que actuarà com a dissolvent i es tornarà a pesar el contingut del matràs (**P₃**).

3. Tot seguit, es posarà la solució durant 3 hores a la màquina d'ultrasons per tal que la mescla es torni homogènia, és a dir que es barregin els dos components (metanol i fruita triturada) mantenint cadascun les seves propietats inicials i sense arribar a reaccionar entre ells.
4. Un cop passat el temps necessari, es traurà el matràs de l'ultrasons i es filtrarà el contingut d'aquest en un nou matràs, mitjançant una placa de vidre fritat i utilitzant la filtració al buit, perquè el procés es produeixi més ràpidament. Amb aquest fet s'aconseguirà separar la polpa, que la rebutjarem, del suc de la fruita.
5. Aquesta solució, però, no només conté el suc de la fruita, sinó que també conté el dissolvent. El metanol, que només ha estat utilitzat per dissoldre i amorosir la fruita, s'eliminarà totalment evaporant-lo al rotavapor, a una temperatura de 65°C durant 90 minuts.
6. Un cop ja s'hagi eliminat de la mostra, es pesarà el contingut del matràs (**P₄**) i es deixarà 20 minuts al dessecador per tal que s'eliminin l'aigua i la humitat. L'agent dessecant utilitzat serà el Pentòxid de Fòsfor (P₂O₅).
7. A continuació, es realitzarà una Cromatografia en Capa Fina (CCF) del producte obtingut, utilitzant com a patró de referència 10 mg d'Àcid El·làgic comercial i com a eluent 10 mL de Metanol. D'aquesta manera, es compararà si el comportament químic del producte final obtingut s'assembla al de l'Àcid El·làgic artificial, i per tant, es podria continuar amb el procés, o si per contra, s'allunya molt del patró, fet que comportaria tornar a repetir l'experiment un altre cop.
8. Finalment, si els resultats obtinguts en la capa fina han sigut correctes, es realitzarà l'última prova definitiva, una Ressonància Magnètica de Protó H¹ (RMN) que confirmarà si el producte conté Àcid El·làgic. Per fer-ho, s'agafarà una petita mostra del producte final obtingut i se'n farà un espectre electromagnètic que determinarà gràficament l'estructura de l'Àcid El·làgic contingut en el producte.

A continuació, es mostren dos diagrames en què es veurà de forma gràfica i esquemàtica el protocol exhaustiu i detallat emprat en la realització de les diferents proves analítiques, per tal de veure i comprendre tots els passos seguits d'una manera fàcil i entenedora.

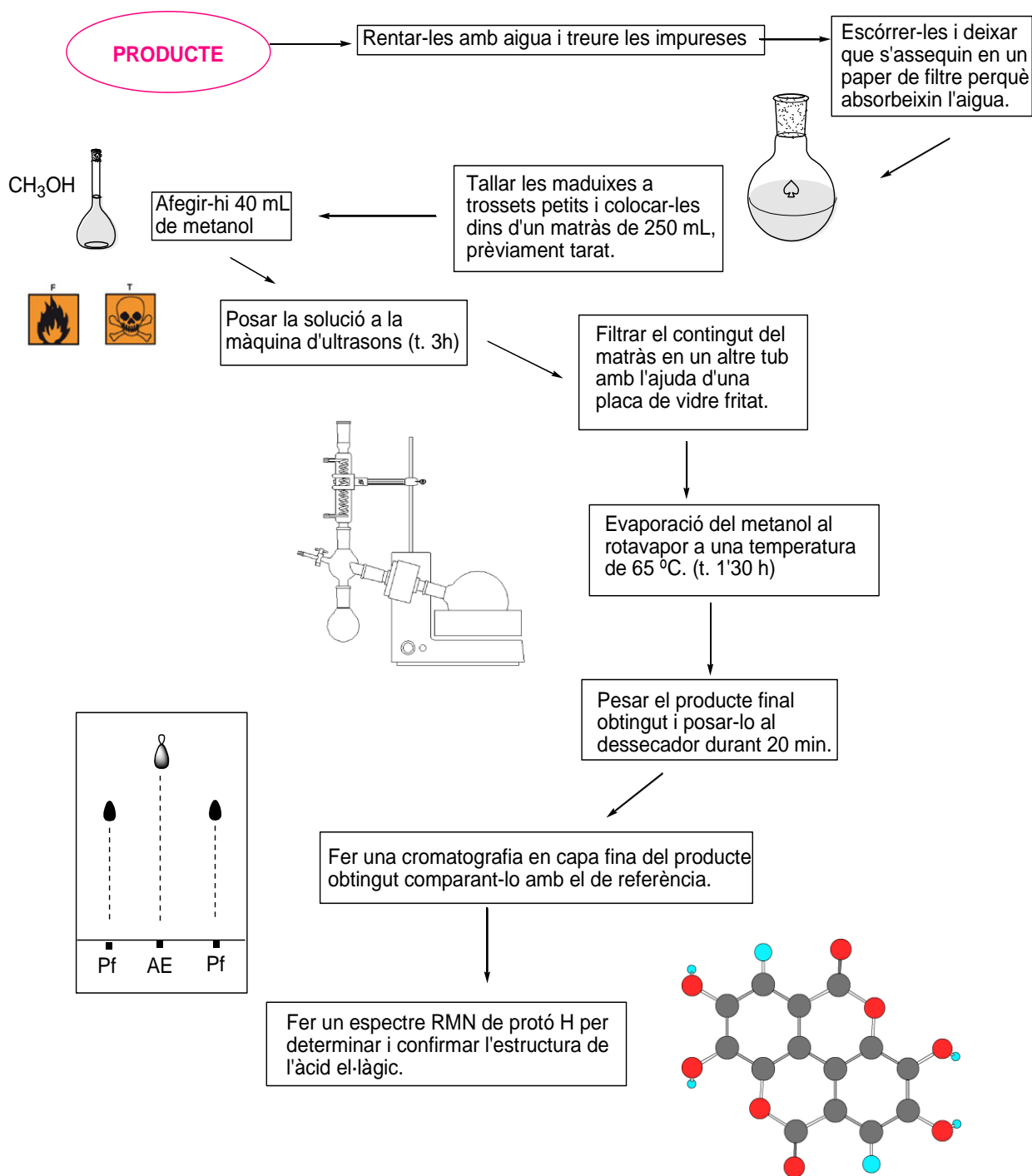


Figura 26. Diagrama experimental representatiu del protocol seguit

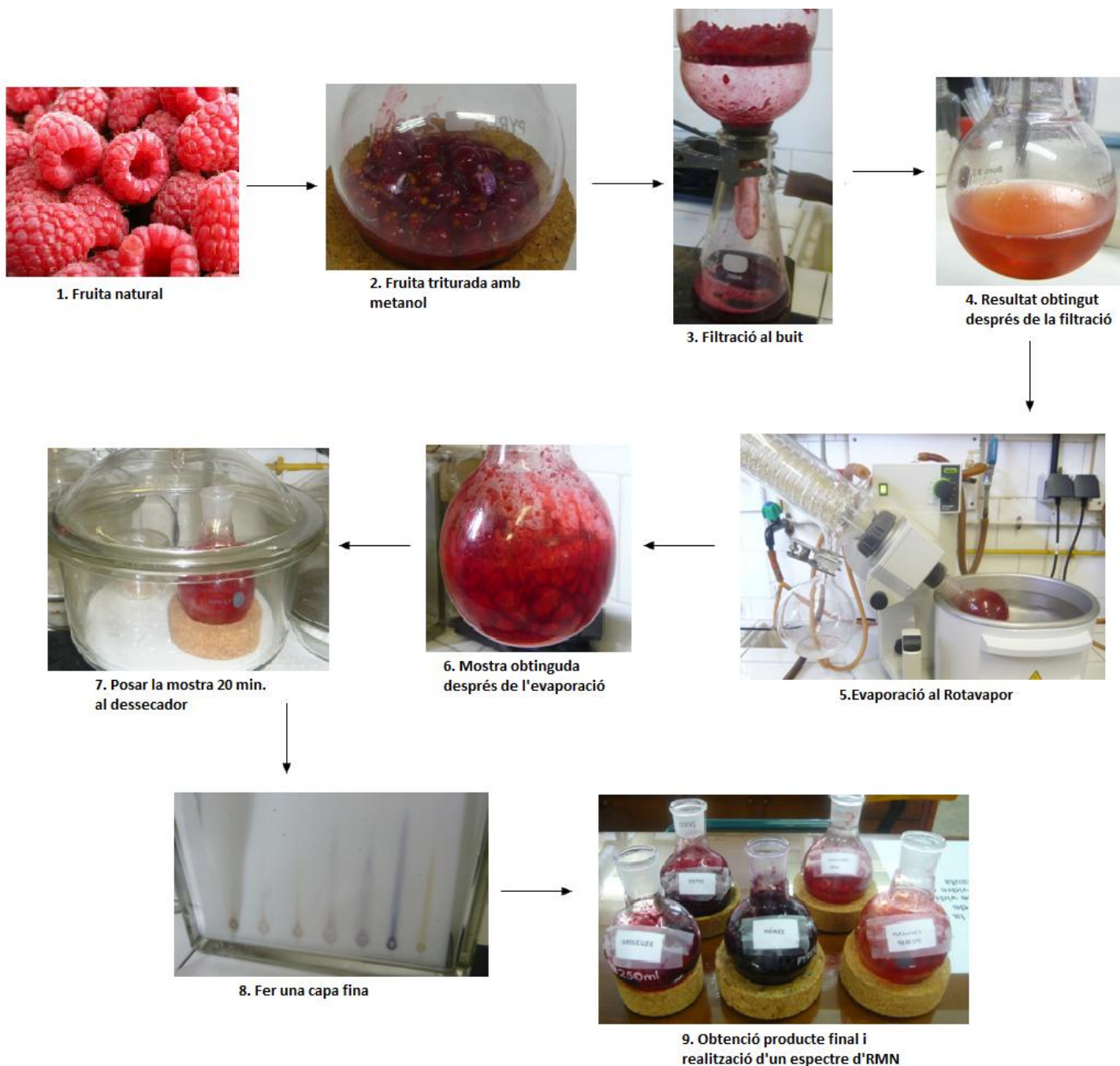


Figura 27. Diagrama fotogràfic representatiu del protocol seguit

El procediment metòdic i el control específic utilitzat per determinar la presència de l'Àcid El·làgic ha sigut el mateix en totes les mostres analitzades, tot i que en cada cas s'han obtingut uns resultats diferents. Per aquest motiu, i per tal de comprendre millor què és el que ha succeït en cada cas, a continuació, s'analitzaran els aspectes i les observacions més significatives experimentades en cada fruita estudiada.

e) Mostres de fruits vermells

• Maduixes del mercat

Les maduixes són els fruits que provenen de les maduixeres, (*Fragaria vesca L.*), un gènere de plantes pertanyents a la família de les *Rosàcies*. Creixen de manera silvestre als boscos de les zones temperades de l'hemisferi nord, sobretot els mediterranis, en llocs humits i ombrívols, sota d'arbres o a als marges dels camins. És una planta de fulla perenne i herbàcia, que no supera els 30 centímetres d'alçada i amb flors blanques. L'època de creixement és a la primavera, durant la qual es produeix la floració i la formació dels fruits, les maduixes. No és però, fins a l'estiu, quan aquests assoleixen la seva màxima esplendor i es poden recol·lectar.

Les maduixes que vàrem utilitzar per realitzar l'extracció de l'Àcid El·làgic van ser comprades al Mercat de la Llibertat de Barcelona, tot i que originàriament, provenien de Sant Pol de Mar, al Maresme.



Figura 28. Comparació entre la mostra de maduixa abans de filtrar i després d'evaporar el dissolvent

• Maduixes del bosc

Les maduixes, segons diversos estudis científics són les fruites vermelles que contenen una quantitat més elevada d'Àcid El·làgic. No se sap però, si els resultats d'aquests experiments van ser determinats utilitzant maduixes conreades artificialment, és a dir, manipulades i tractades amb productes químics, o bé, si es varen usar maduixes silvestres.

En qualsevol cas, l'objectiu proposat és determinar si les maduixes recollides directament del bosc, i que per tant, han crescut de manera salvatge i natural, tenen una major presència d'Àcid El·làgic que no pas les que han passat per la mà de l'home.

Les maduixes utilitzades en l'extracció van ser recollides als boscos de la zona de Pardines, un petit poble de muntanya situat a la comarca del Ripollès.



Figura 29. Maduixes silvestres



Figura 30. Maduixera

• Gerds

El gerd (*Rubus idaeus*) és un arbust de la família de les *Rosàcies*. Procedent de l'Europa oriental i d'Àsia, el gerd creix de manera silvestre als marges dels camins terrosos i a les clarianes dels boscos. És una arbust caducifoli que mesura entre 1 i 2 metres d'alçada. Les tiges, però, són perennes, llenyoses i amb diverses branques proveïdes de petites espines punxants. Per això, també es coneix l'arbust que produeix els gerds com a esbarzer. L'època de creixement és a finals de primavera, durant la qual, es formen les flors blanques i el fruit va adoptant la forma. Aquest, també anomenat gerd, de color vermell i amb diverses vellositats en la polpa, madura entre finals d'estiu i principis de tardor, època en la que ja es pot recol·lectar.



Figura 31. Gerds del bosc

Els gerds que vàrem utilitzar van ser comprats al Mercat de la Boqueria de Barcelona, tot i que originàriament provenien d'un poble de València, Puçol.

• Groselles

Les groselles (*Ribes rubrum*) són els fruits que produeix el groseller, una planta del gènere *Ribes* dins la família de les *Grossulariaceae*. El groseller és un arbust de caducifoli, que mesura al voltant d'1.5 metres d'alçada. Originari de l'Europa occidental, creix principalment en zones elevades i muntanyoses amb un clima temperat fred. Els seus fruits són les groselles, uns petits fruits silvestres de color vermell brillant, amb una forma arrodonida i que maduren entre el final de la primavera i el principi de l'estiu. El seu gust és àcid i ensucrat, per això, s'usen principalment en gastronomia per elaborar mermelades i sucs.



Figura 32. Mostra d'un brot de groselles

Les groselles que vam fer servir per a l'extracció, van ser recollides directament d'un groseller silvestre que es trobava en una zona hortícola de Ribes de Freser, Ripollès.

• Móres

Les móres (*Rubus ulmifolius*) són els fruits que produeixen els esbarzers, un arbust perenne molt invasiu i que s'estén ràpidament formant denses i extenses bardisses. L'esbarzer creix en diverses zones del món, sobretot les mediterrànies, per això cal destacar que és abundant i característic dels Països Catalans, on hi creixen diverses varietats d'espècies autòctones. Considerada com una espècie invasora, l'esbarzer ocupa grans extensions de terreny - pot arribar fins als tres metres d'alçada - i té les fulles de forma dentada. Sobretot és característic perquè a les tiges, llargues i arquejades, si formen petites punxes i espines afilades.

Pel que fa als fruits que produeix, les móres són uns fruits carnosos i arraimats, compostes per petits raïms agrupats entre si que formen la móra gran. El seu color varia durant la maduració, ja que primerament són vermelles, i quan assoleixen la seva màxima esplendor i ja són comestibles per menjar, a finals d'estiu, canvien de color i passen a ser negres.



Figura 33. Móres silvestres

Per realitzar l'extracció vam utilitzar móres silvestres collides directament dels boscos del turó de Sant Pere Màrtir, a la serra de Collserola.

f) Resultats

Un cop realitzades les diferents etapes que conformen el procés de determinació de la presència d'Àcid El·làgic contingut en les diverses fruites analitzades, s'han obtingut uns resultats representatius de cada pas seguit, que indiquen les variacions de pes que han experimentat les mostres des del principi fins al final del procés.

	P ₁ TARA matràs	P ₂ Producte natural	P ₃ Producte metanol	P ₄ Producte evaporat	Q ₁ Producte inicial (p ₂ -p ₁)	Q ₂ Producte final (p ₄ -p ₁)	% ₂ Error exp.*
Maduixes	109.19	180.05	230.56	154.44	70.86	45.25	36.15%
Maduixes bosc	126.59	153.15	203.66	145.99	26.56	19.40	26.98%
Groselles	91.44	179.00	229.51	152.34	87.56	60.90	30.45%
Gerds	107.33	193.95	244.46	171.76	86.62	64.43	23.86%
Móres	108.82	185.13	235.64	163.21	76.31	54.39	28.73%

Taula 2. Resultats de les proves analítiques realitzades a les mostres de fruita * %₂ Error experimental= (Q₁-Q₂/Q₁)

Cal dir que els resultats que es mostren en l'anterior taula en cap cas indiquen si el producte final conté Àcid El·làgic. Per això, cal fixar-se i analitzar detalladament els resultats obtinguts de la realització dels Espectres de Ressonància Magnètica Nuclear de Protó H¹ (RMN)¹.

La següent figura és la mostra d'un exemple model d'espectre que determina el resultat correcte que s'hauria d'obtenir en cas que l'Àcid El·làgic fos present en les fruites estudiades. Prenent el següent com a patró de referència, segons els mecanismes de funcionament de l'aparell, haurien d'aparèixer entre les posicions 7 i 6 ppm dos pics que sobresortissin respecte als altres, representatius dels dos hidrògens lliures que té l'estructura de l'Àcid El·làgic.

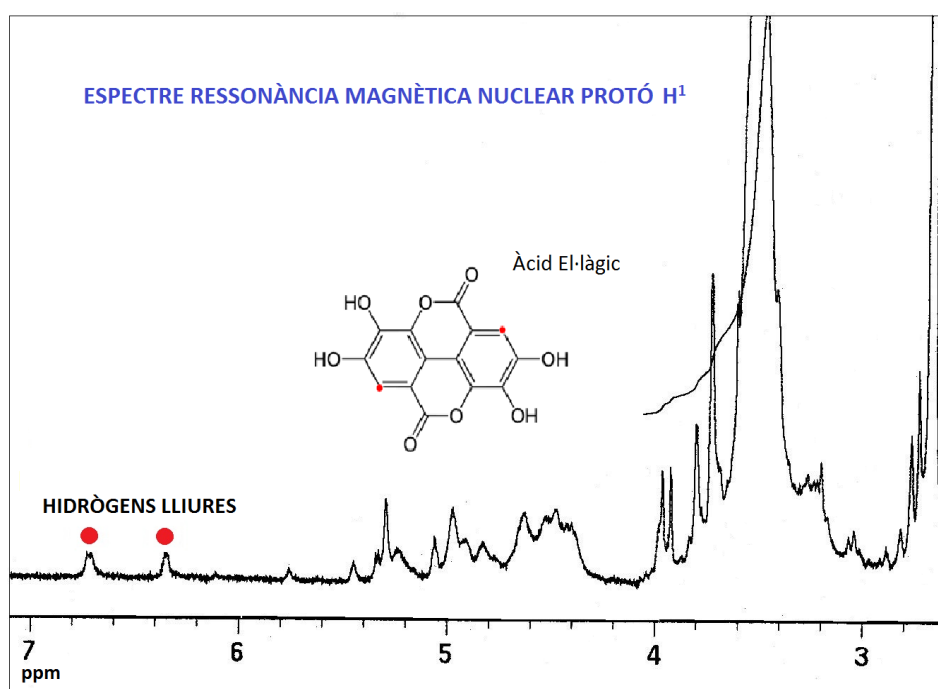


Figura 34. Espectre model en què es veu la presència d'Àcid El·làgic

¹ Els espectres obtinguts de cada mostra analitzada estan inclosos en l'annex.

g) Discussió dels resultats

En relació amb els resultats obtinguts es pot veure com les fruites han experimentat diverses variacions de pes durant tot el procés. Comparant els valors inicials, abans de realitzar les proves (Q_1), respecte els finals (Q_2), s'observa que la disminució de massa ha estat important en tots els casos. Amb aquest fet, sumat a que els resultats han sigut obtinguts empíricament al laboratori i que per tant, s'ha produït error experimental tan elevat, justifiquen la disminució de la precisió i l'exactitud científiques. A més a més, la pèrdua progressiva de pes durant l'experimentació influirà i repercutirà significativament en la realització de proves posteriors, ja que depenent de la quantitat obtinguda en aquesta primera fase es podrà dur a terme o no la segona.

Per aquest motiu, cal intentar cercar les causes que han produït aquestes conseqüències. Analitzant el procediment realitzat, es pot determinar com ; la realització de les diverses proves analítiques a què han estat sotmeses les mostres ha provocat la pèrdua gradual de massa, de mica en mica, a mesura que es realitzaven les experiències, fet que s'ha vist palès en el valor de quantitat de producte final respecte la inicial.

D'altra banda, pel que fa als espectres, s'han analitzat les dades que es podien extreure a partir de la seva observació i s'ha arribat a la conclusió que les cinc mostres de fruites analitzades contenen Àcid El·làgic. Hem pogut determinar aquesta afirmació a partir de l'aspecte que tenien, ja que totes eren semblants en la forma respecte el model i també perquè presentaven el principal indicatiu que confirmava totalment la presència de l'Àcid El·làgic, els dos pics representatius dels dos hidrògens lliures en la seva estructura.

Finalment, com que els resultats obtinguts en la primera part han sigut els esperats, i per tant, es corroboren les hipòtesis i els objectius proposats inicialment, es pot continuar amb el procés d'extracció de l'Àcid El·làgic en la segona fase experimental.

III. EXTRACCIÓ DE L'ÀCID EL·LÀGIC EN FRUITS VERMELLS

a) Objectiu

La segona fase té com a objectiu principal extreure l'Àcid El·làgic contingut en les mostres obtingudes en l'etapa inicial i aïllar-lo dels altres components i substàncies que conformen les fruites. D'aquesta manera, només en quedarà únicament i exclusivament l'àcid, a partir del qual realitzarem la tercera fase experimental.

b) Materials

- Embuts de decantació 500 mL
- Erlenmeyers 250 mL
- Paper indicador pH
- Rotavapor
- Proveta 100 mL
- Balança de precisió
- Làmpada de llum UV
- Placa de CCF de sílica gel
- Matrassos 250 mL

c) Reactius

NOM	Quantitat	PM (g/mol)	Fórmula molecular	Aspecte
Éter etílic	20 mL	74.12	C ₄ H ₁₀ O	líquid incolor
Carbonat potàssic	2 g	138.21	K ₂ CO ₃	sòlid blanc
Diclormetà	20 mL	84.93	CH ₂ Cl ₂	líquid incolor
Àcid clorhídric 2M	40 mL aprox.	36.46	HCl	líquid incolor
Sulfat sòdic anhidre	2 cullerades soperes	142.04	Na ₂ SO ₄	sòlid blanc

Taula 3. Reactius, quantitat introduïda i altres dades

d) Conceptes previs

Per tal d'entendre quin és el protocol que es seguirà per dur a terme l'extracció, cal que tenir en compte quines tècniques analítiques de laboratori farem servir, en què es fonamenten i per què s'utilitzen. L'explicació d'aquests conceptes afavorirà la comprensió del treball i n'agilitzarà la lectura.

❖ Extracció líquid-líquid

L'extracció líquid-líquid és el procés mitjançant el qual una substància que es troba dissolta en un primer dissolvent és transferida a un segon dissolvent, també anomenat extractor.

Aquesta tècnica serveix per separar i aïllar una substància de les altres amb les que es troba mesclada. El mecanisme a partir del qual es fonamenta una extracció líquid-líquid és el que explicarem a continuació:

- Es té una substància dissolta en un **dissolvent 1**. Quan aquesta dissolució entra en contacte amb un **dissolvent 2** que té més capacitat per dissoldre millor la substància a extreure que no pas el dissolvent 1, la substància es dissoldrà en el dissolvent extractor i s'aïllarà del primer. En aquest moment es formaran dues fases diferenciades que es podran separar.
- La peça fonamental que s'utilitza per realitzar aquesta tècnica és l'embut de decantació, proveït d'una clau a la part inferior i d'un tap a la superior que permet la separació dels dos líquids.
- Per realitzar el procés d'extracció, primerament s'introdueix la dissolució que conté la substància que es vol aïllar en l'embut de decantació i s'hi afegeix el volum de dissolvent extractor. Seguidament, es tanca l'embut amb el tap, s'agita suaument i s'espera que se separin les fases per recollir-les. Aquesta operació s'ha de repetir dues o tres vegades per tal que la separació de les fases sigui correcta.

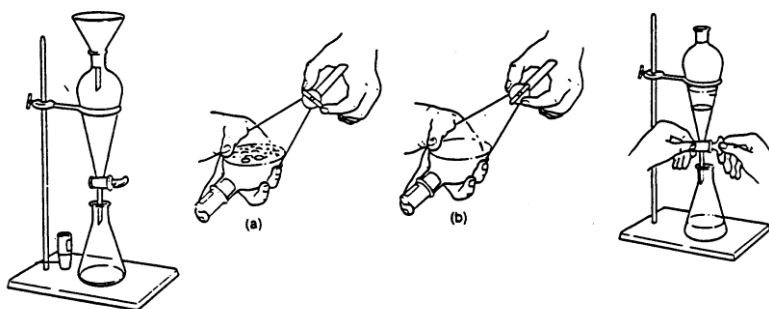


Figura 35. Esquema d'utilització d'un embut de decantació

e) Protocol

1. Per començar, s'agafarà el matràs que contingui el producte final obtingut en la primera fase experimental i se li afegiran els següents productes químics:
 - 2 g de carbonat potàssic (K_2CO_2)
 - 20 mL d'èter etílic ($C_4H_{10}O$)
 - 20 mL d'aigua destil·lada
2. Seguidament, es barreja la mescla amb l'ajuda d'una espàtula per tal quedi homogènia i s'aboca el contingut en un embut de decantació. A partir d'aquest moment, ja es pot procedir a realitzar l'extracció líquid-líquid en el que quedaran dues fases – una aquosa i l'altra orgànica- molt diferenciades entre elles i que les podrem separar fàcilment, recollint-les en dos Erlenmeyers diferents.

Com es pot apreciar en la **Figura 36**, s'observa com es formen dues fases de diferent color, densitat i propietats químiques; l'**aquosa₁** que contindrà l'aigua i suposadament l'Àcid El·làgic, i l'**orgànica₁**, que haurà recollit el dissolvent extractor, l'èter i els sucres i altres substàncies de la fruita.

La fase aquosa es mantindrà a la part baixa de l'embut, ja que l'aigua és més densa que l'èter, (1 g/cm^3 respecte 0.7134 g/cm_3). La part orgànica, conseqüentment, romandrà a la part superior.



Figura 36. Extracció líquid-líquid en maduixes

3. Un cop s'hagi realitzat l'extracció varies vegades s'obtindran les dues fases però no s'utilitzaran totes dues; l'orgànica es rebutjarà, ja que la seva composició no és rellevant en la pràctica i es seguirà el procés d'extracció utilitzant solament l'aquosa.
4. A continuació, mitjançant un paper indicador de pH es calcularà el pH de la dissolució obtinguda. Si es determina que el medi és bàsic, s'haurà de neutralitzar afegint-t'hi Àcid Clorhídric 2 M fins que aproximadament varii a $pH= 1$.

El medi en què es trobi aquesta és important ja que influirà posteriorment en l'extracció de l'Àcid El·làgic de la mostra. En aquest cas, el medi haurà de ser àcid per tal que els grups hidròxid de la molècula no estiguin ionitzats. Si aquest fos bàsic, els quatre grups hidròxid presents en l'estructura estarien ionitzats i, com a conseqüència, es comportarien com si fossin àcids. Per tant, perquè es pugui realitzar fàcilment l'extracció cal que el medi tingui un pH inferior a 7.

5. Un cop el medi ja estigui acidificat es procedirà fer una segona extracció de la dissolució obtinguda, utilitzant com a dissolvent extractor 20 mL de diclorometà (CH_2Cl_2). El procediment utilitzat serà el mateix, tot i que les fases es dipositaran de diferent manera a l'interior de l'embut.

En aquest cas, la fase **aquosa₂** quedarà situada a la part superior i l'**orgànica₂** a l'interior, ja que el diclorometà és més dens que no pas l'aigua (1.33 g/cm^3 respecte 1 g/cm^3). Cal recordar que els dissolvents emprats per dur a terme una extracció líquid-líquid han de ser immiscibles en aigua, ja que sinó el procés no es realitzaria correctament.

6. Seguidament, tal com s'ha fet en l'anterior extracció, es rebutjarà la fase orgànica i utilitzarem només l'**aquosa₂**. Es procedirà a eliminar les partícules d'aigua i aire contingudes en la mostra, utilitzant com a agent dessecant dues cullerades soperes de Sulfat Sòdic (Na_2SO_4).
7. Un cop la mostra estigui seca s'abocarà el contingut de l'Erlenmeyer en un matràs nou (prèviament tarat) i es realitzarà una filtració al buit de la mostra, per tal d'eliminar les traces de sulfat.
8. Finalment, s'evaporarà el diclorometà al rotavapor a una temperatura de $40 \text{ }^\circ\text{C}$ i es realitzarà el control de la mostra fent una Cromatografia en Capa Fina (CCF), utilitzant com a eluent 10 mL de metanol. Per acabar, es pesarà la mostra per tal de determinar la quantitat obtinguda d'Àcid El·làgic, i es realitzarà un espectre RMN de protó H^1 per confirmar que el producte final conté l'àcid, fet que determinarà per tant, que l'extracció s'ha dut a terme correctament.

El següent diagrama mostra de manera gràfica el procediment seguit per dur a terme l'extracció:

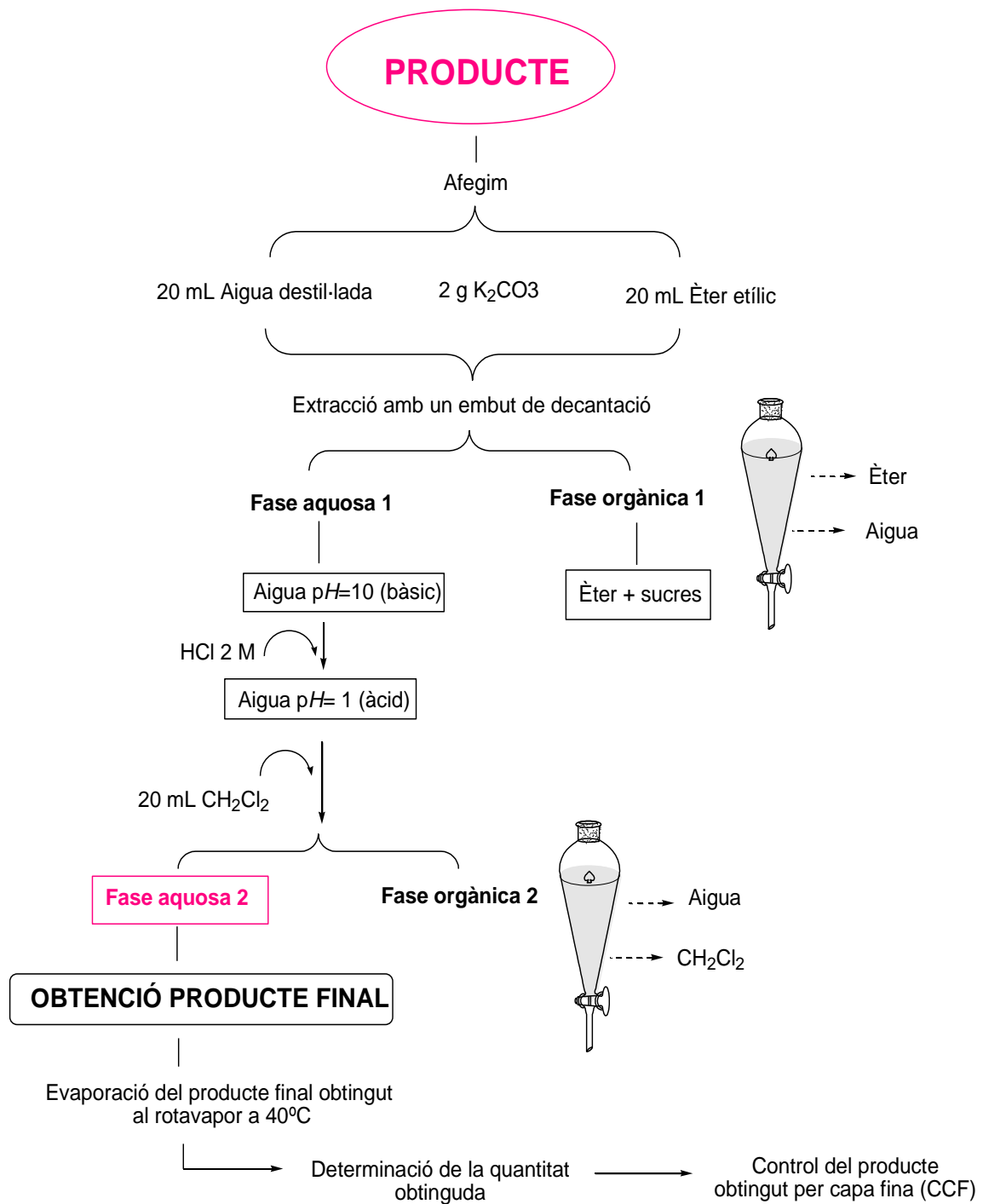


Figura 37. Diagrama del procés d'extracció

f) Resultats

Un cop realitzades les diferents proves analítiques que conformen el procediment utilitzat per extreure l'Àcid El·làgic de les mostres l'àcid el·làgic, s'han obtingut uns resultats representatius del procés seguit que indiquen la quantitat d'àcid extreta de cada mostra i el tan per cent que aquest representa sobre el contingut total de la fruita.

	P ₁ TARA matràs	P ₂ Producte final	Q ₁ Hipotètica (1 % de Q ₂)*	Q ₂ Real (P ₂ -P ₁)	% ₁ Àcid el·làgic (Q ₂ /Q ₁)	% ₂ Error experimental (Q ₁ -Q ₂ /Q ₁)
Maduixes	104.5964	104.9436	0.4525	0.3472	0.7673%	23.27%
Maduixes bosc	98.7530	98.9098	0.1940	0.1568	0.8082%	19.18%
Gerds	113.6276	114.0397	0.6090	0.4121	0.6766%	32.34%
Groselles	106.2249	106.5922	0.6443	0.3673	0.5701%	42.99%
Móres	99.4135	99.7614	0.5439	0.3479	0.6398%	36.02%

Taula 4. Resultats obtinguts de l'extracció de l'àcid el·làgic en les diferents mostres

* Quantitat hipotètica = 1 % de Q₂ (Aplicació de l'1% corresponent a la Quantitat final obtinguda en la primera part experimental)

Per tal de comprovar si els resultats experimentals obtinguts eren correctes es va decidir calcular la quantitat hipotètica, en cas que tot el procés s'hagués dut a terme correctament i no hi hagués hagut cap error, que s'hauria d'haver obtingut a partir del valor numèric obtingut en la primera fase.

A aquesta xifra se li vam aplicar l'1% corresponent -quantitat d'Àcid El·làgic continguda del pes total d'una fruita de 100 g- per tal de comparar aquest valor teòric amb l'obtingut realment i així calcular l'error comès i establir les conclusions.

g) Discussió resultats

Observant els resultats de l'anterior taula, es pot determinar que la fruita que conté un tan per cent d'Àcid El·làgic més elevat són les maduixes del bosc (0.8082%). En segon lloc es situarien les maduixes de compra amb un 0,7673%, i finalment, més enrere s'hi trobarien els gerds, les móres i les groselles, respectivament.

En relació amb els objectius proposats a l'inici, segons el nostre estudi experimental la fruita que ha obtingut un percentatge més elevat d'Àcid El·làgic, ha estat precisament, les maduixes del bosc, les fruites recollides directament del bosc, purament natural que no han estat tractades per la mà de l'home.

Així doncs, basant-nos en els resultats experimentals es pot determinar que les fruites que no han estat tractades amb productes químics artificials tenen una major presència d'Àcid El·làgic que no pas les artificials, i per tant, són presenten més beneficis per a la salut, ja que les seves propietats es troben en la seva màxima essència.

IV. PREPARACIÓ DE DOS PROFÀRMACS UTILITZANT COM A PRINCIPI ACTIU L'ÀCID EL·LÀGIC EXTRET DE DIVERSOS FRUITS VERMELLS

1. INTRODUCCIÓ

Abans d'entrar en aquest apartat, en el qual s'explicarà la recerca experimental que es va dur a terme al laboratori per realitzar la preparació dels dos profàrmacs, s'ha cregut necessari explicar prèviament les característiques i els trets bàsics i essencials del mecanisme d'acció d'aquests, amb la finalitat que la lectura sigui entenedora i de fàcil comprensió.

1.1. Què és un profàrmac?

El terme profàrmac s'utilitza per descriure aquella substància farmacològica que s'administra a l'individu de forma inactiva, és a dir que a diferència dels fàrmacs normals, per tal que s'assoleixi la diana terapèutica destinada ha de superar prèviament les diverses fases de metabolització de l'organisme, en les quals s'alliberarà el principi actiu. Finalment el fàrmac, serà doncs, actiu i disponible per realitzar l'acció terapèutica.

Generalment, els profàrmacs s'utilitzen en molts casos degut a que la substància que actua com a principi actiu presenta diversos problemes – de solubilitat, biodisponibilitat, administració...- quan entra en contacte amb l'organisme.

D'aquesta manera, els profàrmacs estan recoberts per uns grups protectors que, com el seu nom indica, els protegeixen i els aïllen de la possible interacció amb d'altres substàncies, i que un cop travessen la membrana cel·lular, uns enzims específics els hidrolitzen i fan que s'alliberi el principi actiu. Arribats a aquest punt, els grups protectors s'eliminaran a través de les vies metabòliques, ja que la seva funció ja no serà important, i finalment, al seu torn, el fàrmac actiu s'unirà al receptor cel·lular corresponent i assolirà la seva diana terapèutica.

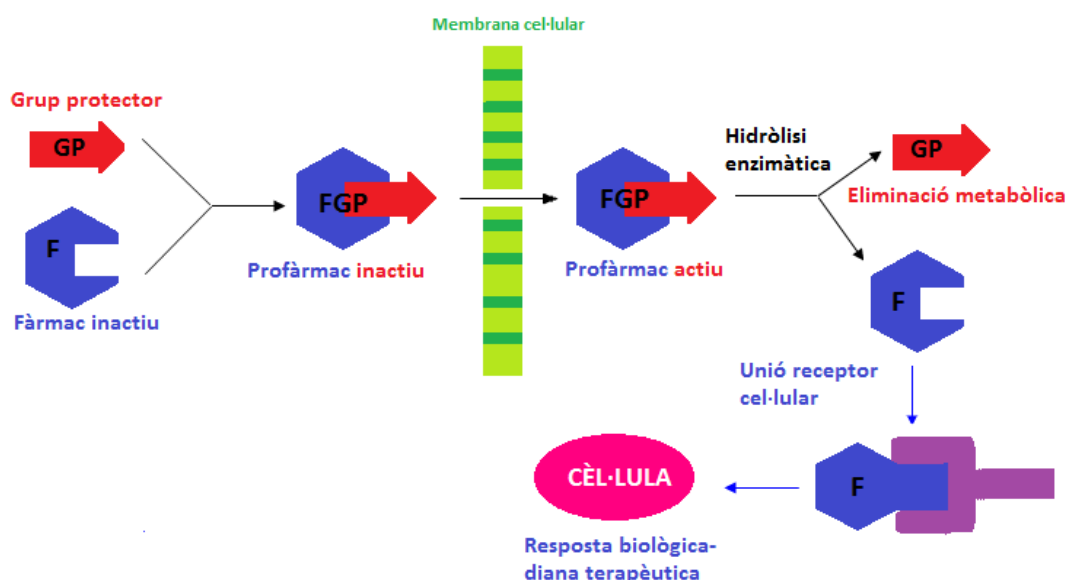


Figura 38. Mecanisme d'acció d'un profàrmac

1.2 Un profàrmac d'Àcid El·làgic

En el nostre cas particular es va estudiar la possibilitat de fabricar un profàrmac en comptes de fer directament un fàrmac actiu, ja que basant-nos en diversos estudis, es demostrava que el principi actiu d'Àcid El·làgic, per si sol, presentava greus problemes de solubilitat.

Aquest fet és degut a que l'Àcid El·làgic és un compost polifenòlic molt soluble en aigua, de caràcter hidròfil. Per tant, a l'entrar en contacte amb l'organisme es dissoldria i s'eliminaria amb molta facilitat a través de l'orina abans que pogués realitzar la seva acció terapèutica.

D'aquesta manera, es va decidir fer servir dos grups protectors orgànics - un éster i un acetal - de caràcter lipòfil, per tal que s'absorbís millor el nostre fàrmac.

L'esquema que es mostra a continuació és una simplificació del problema que presenta l'Àcid El·làgic per superar la membrana cel·lular, així com també, que degut al recobriment del grup orgànic protector pot travessar-la i realitzar l'acció destinada.

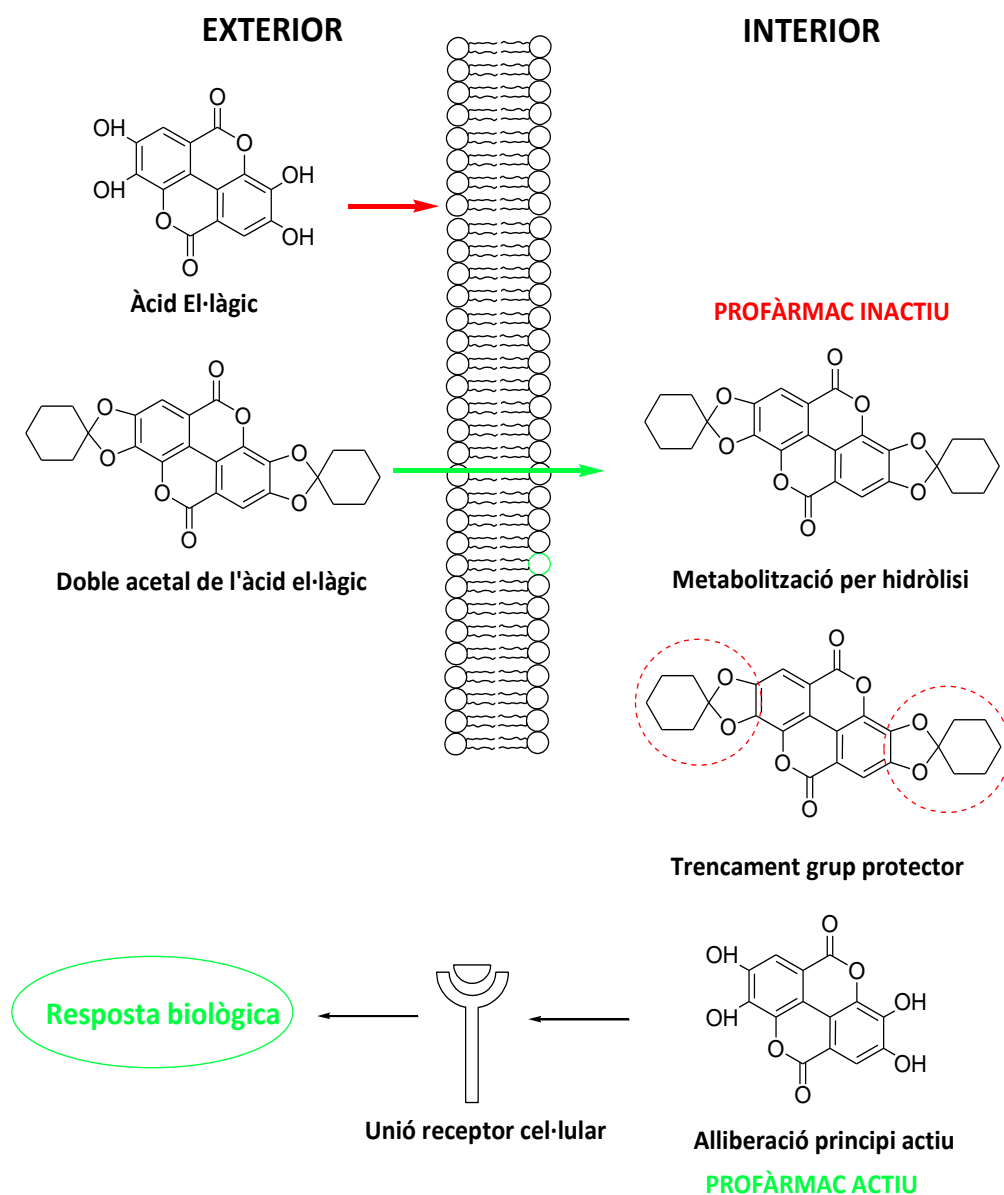


Figura 39. Diagrama dels passos que realitza un profàrmac en l'organisme

2. PROCÉS DE FORMACIÓ D'UN PROFÀRMAC AMB UN GRUP ÉSTER

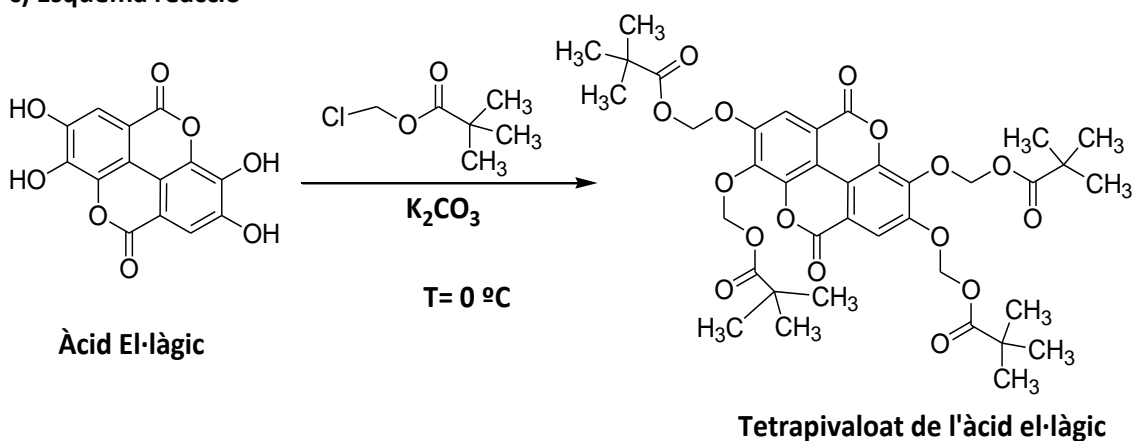
a) Objectiu

La tercera i última etapa experimental té com a objectiu la preparació d'un profàrmac – un fàrmac inactiu recobert d'un grup protector- utilitzant com a principi actiu la quantitat d'Àcid El·làgic extreta dels fruits vermells analitzats en les anteriors etapes.

La formació d'aquest profàrmac es realitzarà mitjançant una reacció química, en què s'incorporarà un grup orgànic éster al principi actiu inicial d'Àcid El·làgic, sintetitzant, d'aquesta manera, una nova estructura.

Cal dir que un cop vist que quantitat obtinguda en l'extracció de l'Àcid El·làgic de les mostres de fruits vermells ha estat tan mínima i insuficient, s'afegiran 300 mg d'Àcid El·làgic comercial per tal que la reacció es pugui produir correctament.

c) Esquema reacció



d) Materials

- | | | |
|-----------------------------------|-----------------------|------------------------|
| - 2 matrassos de 100 mL | - Balança de precisió | - Termòmetre |
| - Placa de CCF de sílica gel | - Nucli magnètic | - Espàtules |
| - Placa d'agitació amb escalfador | - Embut | - Màscara/Guants làtex |
| - Làmpada de llum UV | - Aparell RMN | - Proveta de 100 mL |
| - Refrigerant de reflux | - Rotavapor | - Connexió al buit |

e) Càlculs estequiomètrics

Per tal de determinar la quantitat que cal introduir de cada reactiu s'han de realitzar uns càlculs estequiomètrics a partir del producte inicial de partida (300 mg d'Àcid El·làgic). La relació molar entre aquest i els dos reactius - Clorometil pivaloat [(CH₃)₃CCO₂CH₂Cl] i Carbonat potàssic (K₂CO₃) - és en tots dos casos de 5 mols equivalents.

$$0,3 \text{ g A.El.làgic} \times \frac{1 \text{ mol A.El.làgic}}{338,2 \text{ g A.El.làgic}} \times \frac{5 \text{ mol Pivaloat}}{1 \text{ mol A.El.làgic}} \times \frac{150,61 \text{ g Pivaloat}}{1 \text{ mol Pivaloat}} \times \frac{1 \text{ mL Pivaloat}}{1,045 \text{ g Pivaloat}} = 0,639 \text{ mL Pivaloat}$$

$$0,3 \text{ g A.El.làgic} \times \frac{1 \text{ mol A.El.làgic}}{338,2 \text{ g A.El.làgic}} \times \frac{5 \text{ mol Carbonat Potassi}}{1 \text{ mol A.El.làgic}} \times \frac{138,21 \text{ g Carbonat Potassi}}{1 \text{ mol Carbonat Potassi}} = 0,612 \text{ K}_2\text{CO}_3$$

f) Reactius

NOM	Quantitat	PM (g/mol)	Fórmula molecular	Aspecte
Àcid el·làgic	300 mg + extracció fruites	338.22	$C_{14}H_6O_8$	sòlid beix
Clorometil pivaloat*	0.639 mL	150.61	$(CH_3)_3CCO_2CH_2Cl$	líquid incolor
Carbonat de potassi	0.612 g	138.21	K_2CO_3	sòlid blanc
DMF(Dimetilformamida)	20 mL	73.09	C_3H_7NO	líquid incolor

*Àcid propanoic- 2'2-dimetil- clorometil éster **Taula 5.** Reactius, quantitat introduïda i altres dades

g) Protocol

1. Per començar, s'agafa un matràs de 100 mL de capacitat i s'hi introdueixen 300 mg d'Àcid El·làgic comercial + quantitat extreta de les fruites, 0.612 g Carbonat potàssic (K_2CO_3) i 0.639 mL Clorometil pivaloat ($(CH_3)_3CCO_2CH_2Cl$). Per manipular aquest últim reactiu, s'haurà d'utilitzar uns guants de làtex i una mascareta protectora, ja que és molt corrosiu en contacte amb la pell i tòxic per inhalació.
2. Seguidament, es dissol la mescla amb 20 mL de DMF (Dimetilformamida), que actuarà de dissolvent i es prepara la disposició del mecanisme de reacció. Per fer-ho es dipositarà sobre una placa d'agitació amb escalfador el matràs amb la mescla i es recobrirà amb un recipient de sorra, per tal que s'assoleixi la temperatura òptima de la reacció (80°C) més ràpidament.
3. A continuació, s'introdueix el refrigerant de reflux a la boca del matràs i es connecta a la bomba de buit. A més a més, s'hi posa també un nucli magnètic a l'interior del matràs, i un termòmetre graduat per tal de controlar la temperatura. Quan aquesta s'hagi assolit, es posarà en marxa tot el mecanisme de la reacció i es deixarà en agitació constant durant 24 hores.
4. Un cop transcorregut el temps assignat, s'evaporarà el dissolvent utilitzat (DMF) al microdestil·lador durant 10 minuts i a una temperatura de 160 °C. Es fa servir aquest aparell, ja que el punt d'ebullició del dissolvent és superior al de l'aigua - 153 °C respecte 100°C - i per tant, no es pot utilitzar el rotavapor.
5. Després d'eliminar les restes de dissolvent, es realitza el control de la mostra per Cromatografia en Capa Fina (CCF), utilitzant com a producte de referència 10 mg d'Àcid El·làgic comercial, i com a eluent, una mescla de proporció (5:5), de Diclorometà (CH_2Cl_2) i Metanol (CH_3OH). Finalment, es realitza un espectre RMN que determinarà si el producte final obtingut s'ha format correctament a partir de la reacció.



Figura 41.
Aspecte inicial
de la reacció



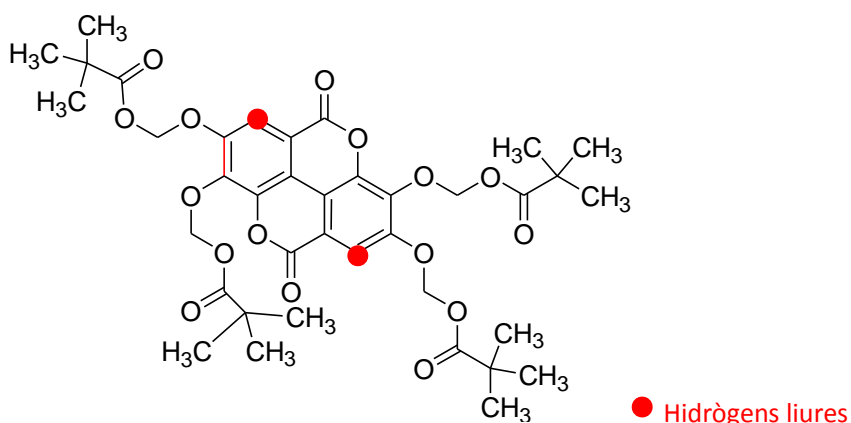
Figura 42. Aspecte de
la reacció 24 hores
més tard

h) Resultats

De la mateixa manera que ho hem fet en la determinació de la presència d'Àcid El·làgic i en l'extracció d'aquest, en el següent cas aquest cas també es realitzarà un espectre d'RMN, que permetrà discernir amb facilitat si s'ha format el profàrmac, a partir de la reacció entre un grup protector éster i l'Àcid El·làgic.

A diferència dels anteriors però, en aquest apartat no es valoraran tan els resultats quantitius com els qualitius, ja que és més important com s'ha realitzat el mètode experimental i el treball al laboratori, que no pas els resultats numèrics que es puguin obtenir.

Així doncs, en un principi, el resultat de l'espectre ens hauria de mostrar la següent estructura, el Tetrapivaloat de l'Àcid El·làgic.



IX. Discussió resultats

Pel que fa als resultats obtinguts de la formació del profàrmac si s'analitzen de forma detallada, es pot dir que s'ha format correctament, ja que tal i com s'ha anat realitzant en tot el procés experimental, s'ha observat que en l'espectre d'RMN² s'hi distingien els dos pics representatius de la molècula d'Àcid El·làgic.

Per tant, en conclusió, es pot verificar que el procés mitjançant el qual s'ha aconseguit formar el Tetrapivaloat de l'Àcid El·làgic ha estat efectiu i s'han assolit les hipòtesis plantejades inicialment, corroborades a partir de les proves realitzades.

² Els espectres RMN estan inclosos en l'annex

3. PROCÉS DE FORMACIÓ D'UN PROFÀRMAC AMB UN GRUP ACETAL

a) Objectiu

L'objectiu principal és el mateix que el de l'anterior pràctica; la preparació d'un profàrmac amb un grup protector. En aquest cas però, s'utilitzarà com a grup protector un acetal.

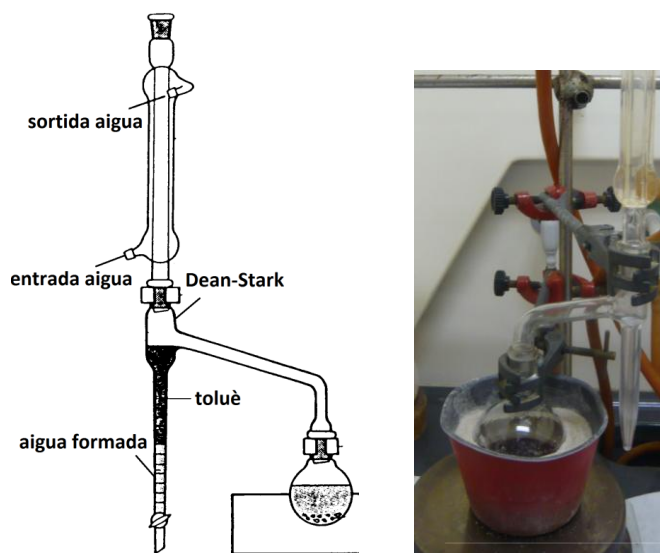
b) Conceptes previs

Per tal de realitzar aquesta pràctica, serà necessari l'ús d'un instrument de laboratori utilitzat freqüentment en síntesis orgànica i que permet separar l'aigua d'un dissolvent.

❖ Col·lector Dean-Stark

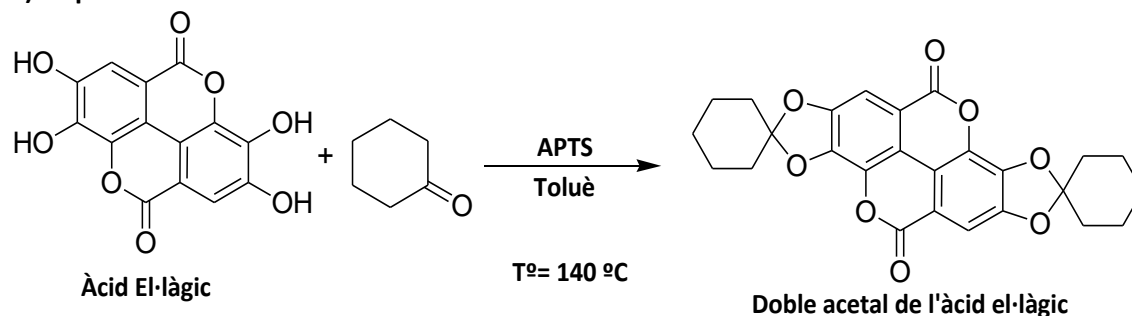
El col·lector de Dean-Stark es fa servir quan en una reacció en la què es forma aigua, s'utilitzen també dissolvents menys densos que ella, en aquest cas, toluè. Aquest mecanisme, s'usa amb la finalitat de separar els dos dissolvents, evitant així, possibles confusions, ja que tots dos són líquids incoloros. Tal i com es pot comprovar en la **Figura 43**, el col·lector de Dean-Stark es tracta d'una peça en forma de colze que s'acoba al matràs per una boca i al refrigerant per l'altra. Té un tub central, que és per on funcionarà el sistema de refrigerant, i un de lateral, normalment graduat amb una clau, que permetrà emmagatzemar l'aigua formada de la reacció.

El seu funcionament és basa en quan s'escalfa la mescla de la reacció, els vapors de l'interior del matràs pugen pel tub central i es condensen amb contacte amb la superfície freda del refrigerant. Llavors l'aigua, com que és més densa que el toluè, cau dins del tub lateral, on es va acumulant.



Figures 43 i 44. Col·lector Dean-Stark

d) Esquema reacció



e) Materials

- Matràs de 100 mL	- Embut	- Rotavapor
- Dean- Stark	- Espàtula	- Balança de precisió
- Refrigerant	- Nucli magnètic	- Aparell RMN
- Proveta de 100 mL	- Placa d'agitació	
- Connexió al buit	- Bany de sorra	
- Termòmetre	- Paper d'alumini	

f) Càlculs estequiomètrics

Per tal de determinar la quantitat que cal introduir de Ciclohexanona (C₆H₁₀O) s'han de realitzar uns càlculs estequiomètrics a partir del producte inicial de partida (500 mg d'Àcid El·làgic). La relació molar entre els dos reactius és 5 mols equivalents.

$$0,5 \text{ g A.El.làgic} \times \frac{1 \text{ mol A.El.làgic}}{338,2 \text{ g A.El.làgic}} \times \frac{5 \text{ mol C.Hexa}}{1 \text{ mol A.El.làgic}} \times \frac{98,15 \text{ g C.Hexa}}{1 \text{ mol C.Hexa}} \times \frac{1 \text{ mL C.Hexa}}{0,947 \text{ g C.Hexa}} = 0,766 \text{ mL Ciclohexanona}$$

g) Reactius

NOM	Quantitat	PM (g/mol)	Fórmula molecular	Aspecte
Àcid el·làgic	500 mg + extracció fruites	338.22	C ₁₄ H ₆ O ₈	sòlid beix
Ciclohexanona	0.776 mL	98.15	C ₆ H ₁₀ O	líquid incolor
Toluè	25 mL	92.14	C ₆ H ₅ CH ₃	líquid incolor
APTS*	Punta espàtula	190.22	C ₇ H ₈ O ₃ S	sòlid rosat

Taula 6. Reactius, quantitats i altres dades *Àcid paratoluensulfònic

h) Protocol

- Per començar, s'introdueixen en un matràs de 100 mL de capacitat 500 mg d'Àcid El·làgic comercial + quantitat extreta de les fruites i 0.776 mL de Ciclohexanona (C₆H₁₀O). Seguidament, s'afegirà a la mescla obtinguda 25 mL de dissolvent, Toluè (C₆H₅CH₃) i una punta d'espàtula d'APTS (C₇H₈O₃S) que actuarà com a catalitzador de la reacció.
- A continuació, es posarà el matràs sobre una placa d'agitació amb escalfador, es col·locarà dins d'un bany de sorra, s'hi posarà un nucli magnètic, i a la boca d'aquest, s'hi introduirà el col·lector de Dean-Stark.
- Seguidament, es connectarà el refrigerant a la bomba de buit i es deixarà la mescla en reflux i agitació constant a una temperatura de 140°C. A més a més, es cobrirà la part superior del matràs amb paper d'alumini per tal que la calor no es dissipï, ja que es necessita que la temperatura es mantingui constant.
- En principi, un cop ja s'hagi iniciat la reacció es deixarà en agitació durant 24 hores, tot i que s'aniran realitzant controls periòdics per anotar els canvis observats i les irregularitats. Un cop transcorregut el temps necessari, es retirarà l'agitació i es deixarà refredar la reacció a temperatura constant.
- Tot seguit, s'evaporaran les restes de la Ciclohexanona al microdestil·lador durant 10 minuts, ja que el punt d'ebullició d'aquesta és més elevat que no pas el de l'aigua – 155,6 °C respecte 100 °C. Després, s'eliminarà el dissolvent, el Toluè (C₆H₅CH₃) al rotavapor.
- Ja per acabar, es realitzarà el control de la mostra per Cromatografia en Capa Fina (CCF), utilitzant com a producte de referència 10 mg d'Àcid El·làgic comercial, i com a eluent, 10 mL de metanol. Finalment es farà un espectre d'RMN que confirmarà si el profàrmac s'ha format correctament.



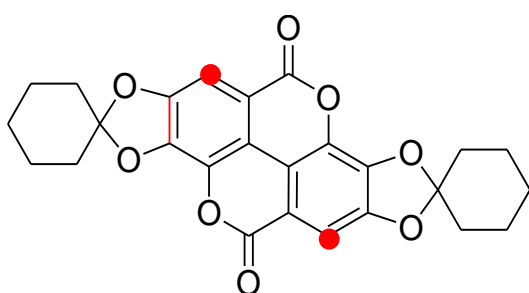
Figura 45. Disposició del mecanisme de reacció



Figura 46. Aspecte final de la reacció

i) Resultats

Tal com en la reacció del profàrmac format per un grup éster, en aquest cas també s'ha realitzat un espectre RMN que ha determinat la presència dels dos hidrògens lliures en l'estructura química del Doble Acetal de l'Àcid El·làgic. Aquest fet, per tant, confirma que la reacció s'ha produït correctament i que en conseqüència, s'ha format el profàrmac esperat.



● Hidrògens lliures

j) Discussió resultats

Si s'analitzen els espectres RMN³ es pot comprovar com, també en aquest cas, la reacció a partir de la qual s'ha format el profàrmac s'ha dut a terme correctament i sense incidències. Per tant, el Doble acetal de l'àcid el·làgic ha esdevingut, tal i com esperàvem, un profàrmac.

Tant en aquesta experiència com en l'anterior els resultats han sigut els proposats inicialment, però, en relació amb els objectius, s'hauria de determinar quin dels dos presentaria una eficàcia més elevada i una acció més potent sobre l'organisme. Tanmateix, per tal de comprovar-ho, s'haurien d'analitzar i tenir en compte molts paràmetres i recursos farmacològics que no són del nostre abast. Potser en un futur, quan l'Àcid El·làgic hagi esdevingut més conegut entre la comunitat científica i s'hagin realitzat més estudis, es podrà arribar a saber quin dels dos presenta una millor resposta biològica. En qualssevol cas, nosaltres hem aportat el nostre petit granet d'arena a la ciència i hem contribuït amb gran esforç per tal que es continuï investigant sobre les nombroses i espectaculars propietats de l'Àcid El·làgic.

³ Estan inclosos en l'annex

IX. CONCLUSIONS DEL TREBALL

Un cop ja acabat el Treball de Recerca, intentaré explicar i resumir breument els aspectes més rellevants i significatius que es mostren al llarg de la memòria escrita. Primerament, s'analitzaran les qüestions relacionades amb els dos grans blocs en què es divideix aquest; la part teòrica i l'experimental, argumentant els objectius proposats a l'inici i els resultats obtinguts finalment. D'altra banda, també comentaré de manera personal què ha significat per mi la realització del treball de recerca, i quins aspectes, tan positius com negatius he trobat.

Pel que fa referència a la part teòrica, s'ha fet una aproximació general al món del càncer, explicant les característiques bàsiques i les qüestions relacionades amb aquest, però sobretot, s'ha incidit bastant en els inconvenients que presenten els tractaments convencionals per combatre'l. A partir d'aquest eix central s'ha obert un camí que ens ha conduït cap una altra dimensió, la de la utilització de la nutrició, i especialment, la prevenció mitjançant substàncies naturals per fer front a la malaltia. D'aquesta manera, el treball s'ha centrat en l'estudi de les propietats dels aliments com a font de substàncies antitumorals i a través d'aquest entramat tan extens i complex, s'ha acabat arribant al nucli que proposàvem assolir, a la figura imprescindible i essencial per la qual es va decidir realitzar aquest treball i sense la qual, aquest no existiria, l'Àcid El·làgic.

En segon lloc, s'ha realitzat un segon bloc, la part experimental, fonamentada a partir de la corroboració i la verificació dels nombrosos estudis realitzats per la comunitat científica, que demostren la presència d'Àcid El·làgic en diversos aliments vegetals, principalment, els fruits vermells. Així doncs, la proposta va ser confirmar aquesta hipòtesi mitjançant la realització de tres pràctiques al laboratori. Pel que fa referència a la primera, es va determinar que les mostres de fruites analitzades continguessin aquest àcid, principal objectiu pel qual realitzàvem la pràctica. Els resultats obtinguts van ser molt satisfactoris, ja que en les quatre mostres de fruits es va verificar la presència d'Àcid El·làgic. Per tant, vam confirmar experimentalment, que les hipòtesis proposades pels científics eren certes.

Arribats a aquest punt, veient que la recerca i la metodologia de treball havien estat positives es va decidir aprofundir una mica més en l'experimentació, i es va proposar l'opció d'extreure l'Àcid El·làgic de l'interior dels fruits per tal de determinar-ne la quantitat, i utilitzar aquesta com a principi actiu per la formació d'un fàrmac.

Finalment, les intencions i hipòtesis que ens havíem proposat en uns inicis, van sortir tal i com esperàvem, es van assolir els objectius, i els resultats van ser molt satisfactoris.

D'altra banda, pel que fa a la part més personal i als aspectes que m'ha aportat la realització d'aquest treball de recerca, puc dir que generalment, tots són bons, tot i que en el procés, hi ha hagut alguns moments difícils i durs. Per sort, però, els he intentat resoldre i finalment els he superat.

En primer lloc, m'agradaria destacar que el fet d'haver pogut realitzar la part experimental en un laboratori d'investigació científica professional ha estat sens dubte, la millor experiència i record que m'emporto del treball.

M'ha obert les portes a un nou món que fins al moment desconeixia, el de la recerca científica. N'havia sentit a parlar, i em cridava l'atenció, tot i que també, cal dir que en tenia certs prejudicis.

No m'hauria imaginat, però que acabaria agradant-me tant i que m'aportaria tants aspectes positius i enriquidors, no només per la meva formació acadèmica, sinó també, per al meu desenvolupament i creixement com a persona.

En relació amb la metodologia del treball, cal dir que amb la realització del Treball de Recerca he adquirit nous coneixements que m'han permès millorar la manera de redactar informes científics, així com també a aprendre a estructurar les idees i practicar l'escriptura d'un text formal. A més a més, he après també a seleccionar la informació important de la supèrflua i a organitzar-me la feina i el temps de treball. En definitiva, un seguit de temes i punts molt importants a tenir en compte i que de ben segur em seran molt útils en un futur.

Contràriament, tot i que no he trobat gaires dificultats, els principals inconvenients als que he hagut de fer front fan referència a la cerca d'informació, degut a que l'Àcid El·làgic és un tema d'actualitat científica que està poc investigat i encara no se n'ha fet difusió entre la població en general, és exclusiu de la comunitat científica. Per tant, no he trobat gaires llibres que tractessin sobre aquest tema, principalment eren pàgines webs que contenien una informació de poca fiabilitat. Tanmateix, la Universitat em va proporcionar bastant material – revistes, articles, documents electrònics- que m'han sigut de gran ajuda.

Per tal de concloure el treball, acabaré fent un resum molt general. L'elaboració d'aquest Treball de Recerca ha estat per mi una experiència molt enriquidora i profitosa, ja que m'ha aportat molts aspectes positius, tan acadèmics com personals, i m'ha ensenyat coses de les quals n'estic molt orgullosa.

III. BIBLIOGRAFIA

LLIBRES

ARGILÉS, J.M ; LÓPEZ-SORIANO, F.J. *El cáncer y su prevención: la importancia de la alimentación*. Edicions Universitat de Barcelona, 1998, 187 pp.

BÉLIVEAU, R ; GINGRAS, D. *Los alimentos contra el cáncer: Prevención y tratamiento*. Laboratorio de Medicina Molecular, Hospital Sainte-Justine y Universidad de Quebec en Montreal, 2006, 213 pp.

BLASCO, M.A ; BONILLA, F. *Superar el cáncer: Guía práctica de prevención y tratamiento*. Editorial Martínez Roca, 2001, 190 pp.

CSÁKY, A ; MARTÍNEZ, M.A. *Técnicas experimentales en síntesis orgánica*. Editorial Síntesis. Colección Química Básica, Madrid, 2001, 223 pp.

IZQUIERDO, M. *Biología molecular del cáncer*. Editorial Síntesis, 1995, 245 pp.

Universitat de Barcelona (UB); Facultat de Farmàcia: *Experimentació en química orgànica i farmacèutica*, manual de pràctiques, Pla d'estudis 2002.

ESTUDIS I DOCUMENTS PDF

Dr. Pedro Guerra López: *Farmacocinética. Paso de fármacos a través de membranas biológicas. Absorción de fármacos*. Universidad Autónoma de Madrid

Salinas-Moreno, Y.; Almaguer-Vargas, G.; Peña-Varela, G.; Ríos-Sánchez, R.
ÁCIDO ELÁGICO Y PERFIL DE ANTOCIANINAS EN FRUTOS DE FRAMBUESA
(*Rubus idaeus* L.) CON DIFERENTE GRADO DE MADURACIÓN
Revista Chapingo. Serie horticultura, Vol. 15, Núm. 1, enero-abril, 2009, pp. 97-101
Universidad Autónoma Chapingo, México.

PUJOL, M.Dolors ; SÁNCHEZ, Isabel: *Studies on anti-cancer agents: phenolic compounds and their pharmacological activity*. Laboratori de Química Farmacèutica (Unitat associada al CSIC). Facultat de Farmàcia. Universitat de Barcelona

Antitumor-promoting activities of tannic acid , ellagic acid , and several gallic acid derivatives in mouse skin. Perchellet, Jean Pierre; Gali, Hala U.; Perchellet, Elisabeth M.; Klish, Darren S.; Armbrust, Andrew D. Anti-Cancer Drug Lab., Kansas State Univ., Manhattan, KS, USA. Basic Life Sciences (1992), 59(Plant Polyphenols), 783-801. CODEN: BLFSBY ISSN: 0090-5542. Journal written in English. CAN 119:262097 AN 1993:662097 CAPLUS

Sources of natural phenolic antioxidants Boskou Dimitrios. Laboratory of Food Chemistry and Technology, School of Chemistry, Aristotle University of Thessaloniki,54124 Thessaloniki, Greece. Trends in Food Science & Technology 17 (2006) 505–512

PÀGINES WEB

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/index.html>

<http://www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/cancer>

<http://www.jonbarron.org/alternative-cancer/therapy-barron-report-ellagic-acid>

<http://www.phytochemicals.info/antioxidants.php>

<http://www.botanical-online.com/taxol.htm>

http://www.lukor.com/ciencia/radicales_libres.htm

<http://www.surechem.org/index.php?Action=document&docId=483155&db=EPB>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18837701>

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691506002407>

<http://carcin.oxfordjournals.org/content/25/8/1427.full?maxtoshow=&HITS=10&hits=10&RESULTFORMAT=&title=anthocyanin+&andorexacttitle=and&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HW CIT>

<http://sciencedirect.nextbio.com/e/search/article.nb?id0=972683&t0=treatment&q0=ellagic acid&id=19015351>

<http://portalantioxidantes.com/antioxidantes/>

IV. ANNEXOS

